

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. jur. H.-J. Kaatsch)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

DER HIRNTOD DES MENSCHEN:
FORENSISCHE NEUROPATHOLOGIE

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

JULIA MARIA MAITH
aus Braunschweig

Kiel 2009

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. med. M. Oehmichen

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. med. G. Deuschl

Tag der mündlichen Prüfung:

05.07.2010

Zum Druck genehmigt: Kiel, den

gez.

*Der Tod! - der Tod? Das Wort erschreckt mich nicht,
Doch hab ich im Gemüt ihn nicht erfasst,
Und noch ihm nicht geschaut ins Angesicht.*

(Adelbert von Chamisso)

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Zur Kontroverse um ein Todeskriterium.....	1
1.2 Morphologische Variabilität des Hirntodes.....	4
1.3 Ethische und theologische Grundlagen	6
1.3.1 Der Begriff Mensch	6
1.3.2 Zur Definition des Todes	6
1.3.3 Kriterien des Todes und Nachweisverfahren	6
1.4 Klinische Aspekte und Diagnostik	7
1.4.1 Zur Definition des Hirntodes	7
1.4.2 Zur Feststellung des Hirntodes	8
1.4.3 Voraussetzungen zur Feststellung des Hirntodes und differentialdiagnostische Überlegungen	9
1.4.4 Die Diagnostischen Tests: Klinische Zeichen zum Nachweis des Ausfalls der Hirnfunktion (Koma, Hirnstammreflexie und Apnoe).....	10
1.4.5 Nachweis der Irreversibilität.....	11
1.5 Epidemiologie und Pathogenese.....	12
1.5.1 Zur Ätiologie des Hirntodes.....	12
1.5.2 Pathophysiologische und biochemische Aspekte	14
1.5.3 Demarkationszonen.....	18
1.6 Mikrotubuli-assoziiertes Protein 2 (MAP2).....	19
1.7 Zielsetzungen der vorliegenden Studie.....	22
 2. Material und Methoden	 24
2.1 Fallmaterial.....	24
2.1.1 Übersicht über die Kollektive	24
2.1.2 Das Gesamtkollektiv (Hirntod-Kollektiv)	25
2.1.3 Die Teilkollektive	27
2.2 Neuropathologische Untersuchung.....	27
2.2.1 Aufarbeitung der Gehirne und Herstellung von Schnittpräparaten	27
2.2.2 NAS-DCIAE - Darstellung	29
2.2.3 CD68 – Darstellung	30

2.2.4 MAP2 – Darstellung	32
2.3 Histologische Anatomie von Ammonshorn und Rückenmark.....	34
2.3.1 Die Ammonshornformation	34
2.3.2 Das Halsmark	36
2.4 Morphologische Diagnostik und Auswertung	37
2.4.1 Makroskopischer Befund	37
2.4.2 Mikroskopischer Befund.....	37
2.4.3 Statistische Auswertung.....	39
3. Ergebnisse	41
3.1 Makroskopische Neuropathologie	41
3.1.1 Typische Strukturveränderungen	41
3.1.2 Hirngewicht.....	44
3.1.3 Intrakranieller Hirndruck	46
3.1.4 Korrelation: Makroskopische Befunde und Diagnosegruppen.....	47
3.1.5 Korrelation: Makroskopische Befunde, Altersklassen und Geschlecht.....	49
3.2 Mikroskopische Untersuchungen:	
Histologische Ergebnisse der NAS-DCIAE und CD68- Darstellung	51
3.2.1 Typische Strukturveränderungen	51
3.2.2 Veränderungen in den Demarkationszonen	56
3.3 Mikroskopische Untersuchungen:	
Neuronale MAP2-Expression im Ammonshorn	58
3.3.1 Beobachtete Strukturveränderungen	58
3.3.2 Vergleich der CA-Regionen innerhalb des Hirntod-Kollektivs.....	61
3.3.3 Vergleich der Kollektive „Hirntod“ und „Kontrolle“ (Akutversterben).....	61
3.3.4 Kasuistik: Drei Sonderfälle eines Hirntodes	64
3.3.5 Zur MAP2-Expression in Astrozyten	65
3.4 Korrelation mit der Dauer der erhaltenen Kreislauffunktion.....	66
3.4.1 Vorbemerkung	66
3.4.2 Das Hirngewicht in Abhängigkeit von der Zeit.....	66
3.4.3 Makroskopische Befunde in Abhängigkeit von der Zeit	69
3.4.4 Mikroskopische Befunde der Demarkationszonen in Abhängigkeit von der Zeit.....	72
3.4.5 Neuronale MAP2-Expression in Abhängigkeit von der Zeit.....	76
3.4.6 Morphologische Befunde klassifiziert nach Diagnosegruppen, Alter und Geschlecht in Abhängigkeit von der Zeit	78

4. Diskussion	79
4.1 Neuropathologische Kriterien bei klinischer Diagnose „Hirntod“	79
4.1.1 Aktuelle Auswertungen vor entwicklungsgeschichtlichem Hintergrund	79
4.1.2 Veränderungen der Zeitintervalle (A-B, B-C) und neuropathologischen Kriterien im Schrifttum	80
4.1.3 Vergleichbarkeit von Forschungsergebnissen verschiedener Studien	85
4.1.4 Zeichen einer Volumenvermehrung und ischämische Nervenzellveränderungen.....	86
4.1.5 Zur Pathomorphologie des Kleinhirns	88
4.1.6 Morphologische Veränderungen innerhalb der Grenzregionen (Demarkation)	89
4.1.7 Weitere Befunde geringerer Spezifität und Häufigkeit	91
4.2 MAP2-Expressionsverlust als neuronaler Indikator einer zerebralen Ischämie ..	91
4.2.1 Neuronale Expression von MAP2 als diagnostischer Marker des Hirntodes?	91
4.2.2 MAP2-Expression in Astrozyten	97
4.2.3 MAP2-Expression in Abhängigkeit von der Zeit	99
4.3 Überlegungen zur retrospektiven Schätzung eines Todeszeitpunktes	103
4.3.1 Der Zeitfaktor: Assoziation der neuropathologischen Kriterien zur Dauer der „Hirntodzeit“ (B-C) und der „Überlebenszeit“ (A-B)	104
4.3.2 Zur Kontroverse um ein Todeskriterium rein funktioneller Definition	107
4.4 Kritische Anmerkungen zu den eigenen Untersuchungen	110
5. Zusammenfassung	113
6. Literaturverzeichnis.....	116
7. Anhang	135

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
Abb.	Abbildung
AEC	Aminoethylcarbazol
Ahg.	Anhang
Aqua dest.	Aqua destillata
ATP	Adenosin-Triphosphat
Aufl.	Auflage
BÄK	Bundesärztekammer
bzw.	beziehungsweise
CA	Cornu Ammonis
ca.	circa
Ca ²⁺	Kalzium
CBF	cerebral blood flow
CD 68	cluster of differentiation 68
CO	Kohlenmonoxid
CO ₂	Kohlendioxid
CPP	cerebral perfusion pressure
d.h.	das heißt
EDB	Epiduralblutung
EDH	Epiduralhämatom
EEG	Elektroenzephalogramm
EP	Evozierte Potentiale
fix.	fixiert
g	Gramm
GA	Gutachten
GCS	Glasgow-Coma-Scale
GFAP	Glial fibrillary acidic protein
H ⁺	Wasserstoff
H ₂ O	Wasser
HE	Hämatoxylin - Eosin
HSP	Hitzeschockprotein(e)
HWK	Halswirbelkörper
HWS	Halswirbelsäule
i.e.	id est (das heißt)
ICP	intracranial pressure
intraop.	intraoperativ
K ⁺	Kalium
Kap.	Kapitel
kDa	Kilodalton
KH	Kleinhirn
l	Liter
lfd.	laufend(e)
LSAB	Labelled Streptavidin Biotin
m	männlich
MABP	medial arterial blood pressure

MAP	Mikrotubuli-assoziiertes Protein
max.	Maximum
mg	Milligramm
min.	Minimum
Min.	Minute(n)
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
n	Anzahl
N.	Nervus
Na ⁺	Natrium
NAS-DCIAE	Naphtol AS-D Chlorazetat-Esterase
nm	Nanometer
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
Nr.	Nummer
NSE	Neuron-spezifische Enolase
O ₂	Sauerstoff
Pa	parenchymal
S	Sektionsnummer
S.	Seite(n)
SAB	Subarachnoidalblutung
SDB	Subduralblutung
SDH	Subduralhämatom
Sek.	Sekunde(n)
SHT	Schädel-Hirn-Trauma
Std.	Stunde(n)
Tab.	Tabelle
TPG	Transplantationsgesetz
traumat.	traumatisch(es)
u.	und
u.a.	unter anderem/n
u.w.	und weitere
V.a.	Verdacht auf
v.a.	vor allem
vgl.	vergleiche
w	weiblich
WB-BÄK	Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer
z.B.	zum Beispiel
Z.n.	Zustand nach
zit. n.	zitiert nach
§	Paragraph
° C	Grad Celsius
µm	Mikrometer

1. Einleitung

1.1 Zur Kontroverse um ein Todeskriterium

Jede Vorstellung vom Tod, sei sie aus ethischer oder naturwissenschaftlicher Sicht, ist als *„soziale Konstruktion, deren Beschaffenheit sich aus den Sinnbedürfnissen und Bezugsrahmen der jeweiligen Gegenwart ergibt“* (Assmann 1999), den normativen Prozessen innerhalb einer Gesellschaft unterlegen. Damit ist der Tod des Menschen *„ein kulturelles Phänomen, das von unterschiedlichsten Formen der Wahrnehmung und Deutung der Wirklichkeit abhängig ist“* (Hoff u. in der Schmitt 1995: S. 159).

Mit dem enormen Fortschritt der Medizin im 20. Jahrhundert, vor allem mit der Möglichkeit zur kardiopulmonalen Reanimation sowie der Entwicklung der Langzeitbeatmung in den 50er Jahren und dem damit verbundenem Aus- und Aufbau intensivmedizinischer Einheiten, wurden mehr und mehr bewusstlose, künstlich beatmete Patienten registriert, bei denen ein Ausfall aller messbaren Hirnfunktionen nachgewiesen wurde¹. Jouvett bezeichnete diesen Zustand als *„irreversiblen Tod des zentralen Nervensystems“* (Jouvett 1959, Wertheimer et al. 1959), Mollaret und Goullon (1959) prägten den klassischen Begriff des *„coma dépassé“*. Bereits zu diesem Zeitpunkt stellte sich - zunächst unabhängig von der Transplantationsmedizin - die Frage, ob und wann die Behandlung eines schwer Hirnverletzten sinnlos geworden sei und ob diese in solchen Fällen nicht eingestellt werden sollte (vgl. Wiesemann 2001). *„Rein spekulativ gesehen, verpflichtet uns schließlich nicht dieser 'Sprung nach vorn', gleichzeitig unsere traditionellen Grundsätze juristischer, ethischer und religiöser Art zu revidieren, gleichsam die Grenze zwischen Leben und Tod neu festzulegen“* (Mollaret u. Goullon 1962)? In Deutschland wurden 1964 durch Frowein et al. Empfehlungen zur Diagnose des Hirntodes herausgegeben, auf deren Grundlage die Erklärungen der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie (1968) über *“Todeszeichen und Todesfeststellung“* publiziert wurden. Sie formulierten das Hirntodkriterium bereits als ein diagnostisches Kriterium des Individualtodes des Menschen. Kurze Zeit zuvor wurden bereits in den USA (Ad Hoc Committee of the Harvard Medical School 1968), wie nahezu zeitgleich

¹ Zur Historie: Galenos von Pergamon beschrieb bereits um 170 n. Chr. verschiedene Wege (*„atria mortis“*), auf denen der Tod in den Körper des Menschen gelangen kann: Herz, Lungen und das Gehirn (vgl. Junge 1999). Auf naturwissenschaftlicher Basis wurde das Phänomen des Hirntodes im Jahre 1796 von dem Physiologen Marie-François-Xavier Bichat beschrieben (vgl. Moskopp 2007). In seinen *„Recherches physiologiques“* definierte er den Tod des Menschen als schrittweisen *„Einsturz der Lebensökonomie“* (Schlich 2001: S. 25), er erläuterte jedoch nicht, ob der Tod des Gehirns den Tod des Menschen als Ganzem bedeute (Schlich 1999, Métraux 2001). Bichat verwendete die Formulierung *„la mort du système nerveux“*, nicht *„mort cerebral“* (vgl. Frewer 1999). Ribert stellte 1908 fest: *„Der physiologische Tod ist ein Gehirntod“* (zit. n. Wagner 1995).

auch in anderen europäischen Ländern, Kriterien zur Feststellung des Todes („*irreversible coma*“) herausgegeben.

Seit Verabschiedung des deutschen Transplantationsgesetzes (TPG) am 1.12.1997 ist die Gültigkeit des Ganzhirntodkriteriums als Nachweis des eingetretenen Todes des Menschen (indirekt²) juristisch verbindlich festgeschrieben³. Im Vorfeld war eine intensive Diskussion durch Vertreter medizinischer, philosophischer, theologischer und juristischer Fachgebiete entflammt, die die klinische Diagnose „Hirntod“ als Kriterium des Todes eines Menschen auf verschiedenen Ebenen debattierte. Es bildeten sich während der Parlamentsdebatten im Wesentlichen zwei entgegengesetzte Lager: Einerseits diejenigen, die den Hirntod als „*diagnostischen Fortschritt*“ und biologisch determiniert als sicheres Todeskriterium akzeptierten, die den Hirntod mit dem Tod des Menschen gleichsetzten - und andererseits diejenigen, die das Stadium des Hirntodes als Teil des Sterbeprozesses dem Leben eines Menschen zuordneten. Letztere unterstellten den Hirntodbefürwortern, durch eine „*Neu- bzw. Um-Ordnung von Leben und Tod*“ (Diaz-Bone u. Schneider 2008) den „*Zeitpunkt des Todes vorzuverlegen*“ (Manzei 2003, vgl. Hoff u. in der Schmitten 1995: S. 176) und „*neu zu definieren*“ (Jonas 1987, vgl. Grewel 1995, Klein 1995, Balkenohl 1998) oder im Sinne einer interessengeleiteten Lobbypolitik einen „*definitorischen Kunstgriff*“ (Knoche 1996, vgl. Zieger 1995, Däubler-Gmelin 1997) zur Rechtfertigung der Organentnahme zu vollziehen.

Sowohl aufgrund semantischer Differenzen (z.B. Mensch, Person, Seele, Geist, Tod) als auch durch die unkritische Verwendung historischer Bezüge waren Missverständnisse zwischen Hirntodgegnern und -befürwortern vorprogrammiert, „*da normative Überlegungen nicht nach empirischen Gesichtspunkten als ... bewiesen oder widerlegt, sondern allenfalls als adäquat oder nicht adäquat akzeptiert oder abgelehnt werden können*“ (Bertels 2002). Trotz des allgemein hohen fachlichen und moralischen Niveaus der Bundestags-Debatte wird das Hirntodkonzept auch nach Verabschiedung des TPG weiterhin kontrovers diskutiert, und es ist fraglich, ob in Zukunft Einigkeit unter normativen Aspekten erzielt werden kann - besonders im Falle einer Definition des Todes auf der Basis eines menschlichen

² Der Terminus „Hirntod“ wird im deutschen TPG an keiner Stelle erwähnt, sondern lediglich umschrieben (§3 (2) TPG). Es werden bewusst keine Definitionen bzw. Kriterien des Todes vorgegeben. Zur Feststellung des Todes wird auf den „*Stand der Erkenntnisse der medizinischen Wissenschaft*“ (§3 (1) TPG) verwiesen.

³ In den meisten europäischen Ländern und in den USA ist die Todesfeststellung gesetzlich geregelt, mehrheitlich im Rahmen eines Gesetzes über die Zulässigkeit der Organentnahme. Grundlegend ist überwiegend das Kriterium des Ganzhirntodes. Ausnahmen bilden Großbritannien (seit 1976 gelten Empfehlungen ohne Gesetzescharakter auf Basis des Stammhirntodkriteriums, die im Oktober 2008 ratifiziert wurden) und Polen (der Nachweis des Stammhirntodes ist seit 1995 durch das staatliche TPG legitimiert; vgl.: Haupt u. Rudolf 1999, Wijdsicks 2002, Royal Colleges and Faculties 1976, Academy of Medical Royal Colleges 2008).

Subjektbegriffs.

Nicht zuletzt ist die hohe Verunsicherung der Bevölkerung bezüglich einer sicheren Todesfeststellung auf diese in der Öffentlichkeit mit emotionaler Heftigkeit ausgetragene Diskussion zurückzuführen, was auch durch eine vergleichsweise geringe Zustimmung zur postmortalen Organspende verdeutlicht wurde. Derzeit bewerten zwar 79% der Bevölkerung die Organspende grundsätzlich positiv, nur 14% besitzen jedoch einen Organspendeausweis (Deutsches Ärzteblatt 17 2009). Nach älteren Umfragen glauben nur 18,2% der Bevölkerung, *„dass bei der Organverpflanzung in Deutschland alles mit rechten Dingen zugeht“* (Gold et al. 2001). Außerdem besteht die Angst, *„verfrüht für Tod erklärt zu werden“* (Hollenbeck et al. 1996). *„Missverständliche und unzutreffende Äußerungen auch von Ärzten zum Tod durch völligen und irreversiblen Hirnausfall können die Bevölkerung verunsichern und ihr Vertrauen zu den Ärzten schädigen“* (Dudziak et al. 1994, vgl. Götz et al. 2001). Der Aufklärungsbedarf des Hirntodkriteriums ist, auch unter medizinischem Fachpersonal, weiterhin hoch.

Nach dem deutschen Transplantationsgesetz (1997) ist *„die Entnahme von Organen ... nur zulässig, wenn ... der Tod des Organspenders nach Regeln, die dem Stand der Erkenntnisse der medizinischen Wissenschaft entsprechen, festgestellt ist ...“* (§3 (1) TPG). Ebenso wird *„der endgültige, nicht behebbare Ausfall der Gesamtfunktion des Großhirns, des Kleinhirns und des Hirnstamms“* vorausgesetzt (§3 (2) TPG). Der Bundesärztekammer (BÄK) wurde per Gesetz die Aufgabe und Kompetenz übertragen, Richtlinien zu formulieren, welche erstens die sichere Diagnose des Todes eines Menschen garantieren und zweitens die Feststellung des irreversiblen Ausfalls der Gesamtfunktion des Gehirns zweifelsfrei gewährleisten (§16 (1) TPG, vgl. Fußnote 2).

Im Gegensatz zu den normativen Satzungen einer Todesdefinition des Menschen bestand unter den Wissenschaftlern weitgehender Konsens bezüglich empirisch definierter Aspekte des Hirntodkonzepts auf Ebene der diagnostischen Tests, die die Kriterien zur Feststellung des Hirntodes auf Validität und Reproduzierbarkeit überprüfen. Es sei bis heute nicht ein Hirntod-Fall bekannt, bei dem die Diagnose nach den Richtlinien der BÄK erfolgte, und dennoch Hirnfunktionen nachgewiesen worden wären. *„Die Diagnose ‘Hirntod’ ist damit wahrscheinlich die sicherste in der ganzen Medizin überhaupt“* (Schlake u. Roosen 1995, vgl. Link 1996, Moskopp 2005).

Die klinische Feststellung und Dokumentation des Hirntodes unterliegen in Deutschland einheitlichen Kriterien (Götz et al. 2001). Weltweit besteht allerdings kein Konsens bezüglich

dieser Kriterien (Wijdicks 2002, Baron et al. 2006, vgl. Kap. 4.1.7). Forderungen zur internationalen Standardisierung wurden bisher nicht umgesetzt (Bertels 2002).

In Fragen der normativen Setzung des Todes- und Subjektbegriffes können sich der Deutsche Bundestag und die BÄK mittlerweile auf kirchliche und philosophische Kompetenz beziehen. Aktuelle Grundlagen ethischer und theologischer Aspekte des Ganzhirntodkriteriums werden in vorliegender Arbeit zusammenfassend dargelegt. Klinische Aspekte und Richtlinien zur Feststellung des Hirntodes sollen vor dem Hintergrund der Pathophysiologie erläutert werden. Einzelne diagnostische Verfahren der Klinik werden jedoch keiner kritischen Überprüfung unterzogen.

1.2 Morphologische Variabilität des Hirntodes

Im Vergleich zu der ausgedehnten, semantisch präzisen wissenschaftlichen und moralischen Diskussion im Hinblick auf klinische und ethische Aspekte des Hirntodkriteriums wurde der pathomorphologischen Diagnostik für die Definition des Hirntodes nur eine vergleichsweise geringe Bedeutung zugemessen. Die „*innere Enthauptung*“ (Angstwurm 1993) war eine beliebte Metapher in den Parlamentsdebatten zum Transplantationsgesetz als Ausdruck der definitiven Trennung zwischen Gehirn und Rumpf. Das Hirnorgan sei „*abgestorben und damit seine Gesamtfunktion endgültig ausgefallen*“ (Angstwurm 2000).

Seit jeher wird der Hirntod des Menschen auf Grundlage funktionsorientierter klinischer Untersuchungsmethoden diagnostiziert und über die klinische Diagnostik definiert. Neuropathologische Erkenntnisse des Gehirns oder des Rückenmarks waren für die Entwicklung des „Hirntod-Konzepts“ und der heute (in Deutschland) gültigen „Kriterien zur Feststellung des Hirntodes“ stets von untergeordneter Relevanz. Tatsächlich wurden neuropathologische Untersuchungen von Hirntoten nur unregelmäßig publiziert.

Bertrand et al. sowie Mollaret und Goullon erklärten 1959 eine ausgeprägte „*intravitale Autolyse als Hauptkriterium des ... Hirntodes*“⁴ (zit. n. Unterharnscheidt 1993: S.477). Doch während in den 50er Jahren die Beatmung von Hirntoten aufgrund fehlender Erkenntnisse des Sachverhalts und unabhängig von einer möglichen Organspende häufig doch bis zum Herzstillstand weitergeführt wurde (Spittler 1995), ging es mit dem Aufkommen der Transplantationsmedizin vor allem um den „Faktor Zeit“: Nach Feststellung des Hirntodes

⁴ Da der Hirntod heute definitiv als Todeskriterium des Menschen gilt, sollten Begriffe wie „intravital“ (innerhalb des Lebens) vermieden werden, um Fehlinterpretationen zu vermeiden.

sollen vitale, funktionstüchtige Organe gewonnen werden, die keine Ischämie-bedingten Schädigungen aufweisen. So kann der in vielen Fällen beschriebene vollständige Untergang mit Verflüssigung des Hirngewebes (vgl. Unterharnscheidt 1993: S. 480, 488, 495) und einer „Pannekrose aller Gewebselemente“ (vgl. Käufer 1971: S. 36, Stratmann 1978: S. 106) als Extremform eines sogenannten „Respiratorgehirns“⁵ heute nur noch selten nachgewiesen werden: Eine aktuelle Auswertung von 41 Fällen eines klinisch diagnostizierten Hirntodes konnten solch extreme Nervenzellschädigungen mit Auflösung des Gewebezusammenhangs in keinem Fall bestätigen (Wijdicks u. Pfeifer 2008).

Eine Korrelation des pathomorphologischen Hirnbefundes mit der Dauer der intensivmedizinischen Behandlung und des hirntoten Zustandes kann als gesichert angesehen werden (Oehmichen 1994, Schneider et al. 1999, Oehmichen et al. 2009a). Typische neuropathologische Veränderungen des Hirntodes, die in den 60er bis 80er Jahren beschrieben wurden, sind nach aktuellen Publikationen infolge des heute bestehenden relativ kurzen Zeitintervalls zwischen (möglichst frühzeitiger) Hirntod-Diagnose und Organentnahme verändert (Wijdicks u. Pfeifer 2008, Saposnik u. Muñoz 2008). Die Differenzierung der morphologischen Befunde heute von denen der damaligen Zeit scheint daher von enormer Relevanz. In vorliegender Arbeit sollen unter anderem die derzeitigen neuropathologischen Befunde bei klinischer Diagnose eines Hirntodes anhand des eigenen Untersuchungsmaterials dargelegt und bezüglich ihrer Wertigkeit vorgestellt werden. Ein aktueller Kriterienkatalog existiert bisher nicht. Des Weiteren soll ein Vergleich der eigenen Ergebnisse mit den Auswertungen früherer Studien stattfinden. Kann eine aktuelle „Verkürzung“ der Zeitdauer zwischen primärer Hirnschädigung und Sektion festgestellt werden? Fallen die morphologisch sichtbaren Schädigungen des Gehirns daher diskreter aus? Von Bedeutung ist außerdem, inwieweit die morphologischen Befunde der Einzelfälle untereinander variieren und ob von ihnen Rückschlüsse auf den „Beginn des Hirntodes“ im Sinne eines Todeszeitpunktes gezogen werden können.

⁵ Auf den Terminus „Respiratorgehirn“ soll in vorliegender Arbeit verzichtet werden. Ursprünglich als Jargon-Ausdruck verwendet (Unterharnscheidt 1993), findet sich der Begriff in früherer Literatur häufiger (Lindenberg 1972, Mosely et al. 1976, Walker et al. 1975, Towbin 1973). Er wird jedoch nie eindeutig definiert und findet in der Pathologie keine allgemein gültige Anwendung (Molinari 1989). Des Weiteren beruhen morphologische Veränderungen des Gehirns Hirntoter nicht auf dem Einsatz eines Beatmungsgerätes, wie früher angenommen und von Walker et al. 1975 publiziert (Walker et al. 1975, Leestma et al. 1984). Ein Verhältnis besteht darin, dass es durch kreislaufstützende Maßnahmen und die Anwendung eines Respirators überhaupt erst möglich wurde, Organe des Körpers vital zu erhalten, währenddessen der Patient bereits an einem Hirntod verstorben war. Die Pathomorphologie des Gehirns ist abhängig von der Überlebens- bzw. Hirntodzeit und dementsprechend auch indirekt abhängig von der Beatmungszeit.

1.3 Ethische und theologische Grundlagen

1.3.1 Der Begriff Mensch

Der Mensch kann als leiblich-seelisches Ganzes, als körperlich-geistige Einheit im Sinne von Physis und Meta-Physis ethisch und theologisch zufriedenstellend definiert werden⁶. Über die Gültigkeit dieser Definition besteht weitgehender Konsens.

1.3.2 Zur Definition des Todes

Es gibt nur einen Tod. Dieser Tod stellt, ebenso wie das Leben und das Sterben, einen prozessualen Vorgang dar. Er kann begrifflich nicht für sich allein, nicht als etwas Eigenständiges bestimmt werden, sondern nur vom Leben her als Verlust, als Ende des Lebens. Ein Zustand zwischen Leben und Tod existiert nicht („*tertium non datur*“, Honnefelder 2000). Der Tod des Menschen ist eindeutig durch dessen Endgültigkeit charakterisiert. In ihm spiegelt sich das Verständnis des Menschenbildes wieder.

„Es ist entscheidend, daß wir diese doppelte Ebene beachten, daß wir einmal vom Prozeß des Sterbens sprechen, den wir mit unseren empirischen Mitteln beobachten können, und dann vom Ereignis des Todes, das per definitionem dieser Beobachtbarkeit entzogen ist... Wir können durch die Beobachtung des Sterbeprozesses niemals den Zeitpunkt des Todes, verstanden als anthropologisches Ereignis, bestimmen, sondern immer nur vom Vorhandensein bestimmter Indizien darauf zurück schließen, daß der Tod der Person bereits eingetreten ist“ (Schockenhoff 1995).

1.3.3 Kriterien des Todes⁷ und Nachweisverfahren

„Es gibt nur einen Tod, aber verschiedene Ursachen, Eintrittsweisen, Zeichen und Nachweisverfahren dieses einen Todes“ (Dudziak et al. 1994).

Mit dem Nachweis des Ganzhirntodkriteriums wird der Verlust der Gehirnfunktion festgestellt. Die Funktion des Gehirns stellt die körperliche Grundlage für die nur indirekt

⁶ Hier offenbart sich die Bedeutung der verwendeten Termini: Während in der Theologie das Menschsein an die leib-seelische Einheit geknüpft wird, sollte in den Debatten um das TPG zwischen Geist und Seele differenziert werden. Der Geist im Sinne von Meta-Physis wurde mit der (messbaren) Gehirnaktivität assoziiert, das Menschsein somit von der Existenz seines Geistes, nicht aber seiner Seele, abhängig gemacht. Der körperlich-geistigen Einheit kann sehr wohl eine Seele zugesprochen werden, dies liegt jedoch ausschließlich im Bereich der Theologie (vgl. Hintze 1997, Petersen 2002: S. 250).

⁷ Mit der Einführung des Ganzhirntodkonzepts handelt es sich nicht um eine neue *Definition* des Todes, sondern lediglich um ein neues *Kriterium* des einzigen, unveränderlichen Todes (Schlake u. Roosen 1998). Die exakte Anwendung dieser Termini ist bedeutend für die Hirntoddiskussion, da die Problematik des Todes vor allem auch ein Problem der exakten Definition ist (Pendl 1986).

erfahrbare meta-physische Komponente des Menschen dar, sie gilt als alleiniger Repräsentant des Geistes und des Selbst. Das Gehirn als Teil der Physis (des Körpers) ist einer medizinischen Diagnostik zugänglich, seine Funktionen sind messbar. Folglich ist mit dem Nachweis des Ganzhirntodes die körperlich-geistige (aus theologischer Sicht die leib-seelische) Einheit „*unwiderruflich zerbrochen*“ (Seehofer 1996b). Im Gegensatz zu anderen Hirntodkriterien (kognitiver Teilhirntod, Stammhirntod) nimmt das Kriterium des Ganzhirntodes keine Wertung bestimmter Hirnfunktionen vor. Da auch traditionell akzeptierte Todeskriterien (Herztod) vom Kriterium des Hirntodes abhängen (z.B. Abbruch der kardiopulmonalen Reanimation aufgrund kürzerer Ischämietoleranzzeit des Gehirns⁸), ist eine grundlegende Veränderung des gesellschaftlichen Umgangs mit dem Begriff „Tod“ (im Sinne einer „*Umdefinition*“ [Jonas 1987, Miller u. Truog 2009]) nicht gegeben.

Das Ganzhirntodkriterium ist - mehr als das Herztodkriterium - durch seine Endgültigkeit eindeutig charakterisiert. Somit erfüllt es die Forderung, mit höchster Sicherheit den bereits eingetretenen Tod des Menschen festzustellen.

Die evangelische und die römisch-katholische Kirche erkennen den Hirntod als Kriterium des Todes eines Menschen an. Bei Einhaltung der Richtlinien zur Feststellung des Hirntodes des Wissenschaftlichen Beirates der Bundesärztekammer (WB-BÄK 1998) hat der untersuchende Arzt neben der klinischen Sicherheit die „*moralische Gewissheit*“ (Papst Johannes Paul II. 2000), den Tod des Menschen festzustellen.

1.4 Klinische Aspekte und Diagnostik

1.4.1 Zur Definition des Hirntodes

Das Hirntodsyndrom ist eine klinische Diagnose und wird klar definiert „*als Zustand der irreversibel erloschenen Gesamtfunktion des Großhirns, des Kleinhirns und des Hirnstamms. Dabei wird durch kontrollierte Beatmung die Herz- und Kreislauffunktion noch künstlich aufrechterhalten. ... Mit dem Hirntod ist naturwissenschaftlich-medizinisch der Tod des Menschen festgestellt. ... Wird vom Arzt ein äußeres sicheres Zeichen des Todes festgestellt, so ist damit auch der Hirntod nachgewiesen*“ (WB-BÄK 1998).

⁸ In jedem Fall führt ein Herz-Kreislaufstillstand früher zum Hirntod, als zur Irreversibilität des Herzstillstandes (WB-BÄK 1998).

1.4.2 Zur Feststellung des Hirntodes

„... Die Todesbestimmung fußt auf der klinischen Beurteilung, ergänzt - falls notwendig - durch verschiedene Diagnosehilfen. Bei dem heutigen Stand der medizinischen Wissenschaft kann die Todesbestimmung aber weder durch ein technisches Kriterium allein zufriedenstellend beantwortet werden, noch kann ein technisches Verfahren die umfassende Beurteilung durch einen Arzt oder durch ein Team von Ärzten ersetzen“ (Deklaration des Weltärztebundes zur Definition des Todes, zit. n. WB-BÄK 1997).

Nach der Formulierung eines ersten, einfachen Schemas zur Diagnostik des Hirntodes (*„Todeszeichen und Todeszeitbestimmung“*, Deutsche Gesellschaft für Chirurgie 1968) veröffentlichte der WB-BÄK unter Leitung des Neurochirurgen H. Kuhlendahl im Jahre 1982 *„Entscheidungshilfen zur Feststellung des Hirntodes“*. Aufgrund des medizin-technischen Fortschritts und der Entwicklung bzw. Spezifizierung diagnostischer Zusatzuntersuchungen erfuhr dieser Kriterienkatalog in der Folgezeit drei Fortschreibungen⁹, *„die klinischen Zeichen des Hirntodes hingegen sind seit drei Jahrzehnten uneingeschränkt gültig und der Nachweis des Hirntodes ist weltweit als sicheres Todeszeichen anerkannt“* (WB-BÄK 1997). *„Der Wissenschaft ist immer ein Entwicklungspotential inhärent“*, daher werden auch in Zukunft weitere Fortschreibungen der Hirntodkriterien erforderlich sein, *„und real kann nur vom jeweiligen Kenntnisstand diskutiert werden“* (Meyer 1998).

Durch das TPG autorisiert, legt die BÄK *„den Stand der Erkenntnisse der medizinischen Wissenschaft in Richtlinien fest“* (§16 TPG), ihre *„Entscheidungshilfen“* zur Feststellung des Hirntodes hatten somit fortan Richtliniencharakter. Diese sind Teil des ärztlichen Standesrechts und als solche über die Berufsordnung für jeden Arzt verbindliches Berufsrecht (vgl. Madea u. Brinkmann 2003). Der diagnostizierende Arzt trägt *„die unteilbare Verantwortung für die Feststellung des Hirntodes“* (WB-BÄK 1998). *„Bei klinischem Verdacht auf das Vorliegen eines kompletten Ausfalls der Hirnfunktionen sollte - unter Beachtung der Vorraussetzungen - unverzüglich die Hirntoddiagnostik vorgenommen werden“* (Weber et al. 2008).

Die Hirntoddiagnostik ist an bestimmte klinische Vorraussetzungen geknüpft und erfordert die Feststellung der klinischen Symptome Bewusstlosigkeit (Koma), Hirnstamm-Areflexie

⁹ 1986 wurde als Diagnostikum der Verlust der Wellen III bis IV der frühen akustisch evozierten Hirnstammpotentiale sowie eine obligate EEG-Ableitung bei primär infratentoriellen Hirnschädigungen festgeschrieben (1. Fortschreibung). 1991 wurde die transkraniale Dopplersonographie (2.Fortschreibung) und 1997 die nuklearmedizinische Perfusionsszintigraphie zum Nachweis des zerebrovaskulären Kreislaufstillstandes (3. Fortschreibung) aufgenommen, außerdem wurde das altersdifferenzierte Vorgehen bei Kindern dargestellt. Die 3. Fortschreibung wurde 1998 durch formale Ergänzungen den Anforderungen des Transplantationsgesetzes angepasst.

und Atemstillstand (Apnoe). Aus medizinischer und juristischer Sicht muss zusätzlich ein Nachweis der Irreversibilität dieser Ausfallsymptome erbracht werden (Abb. 1.1).

Da der Hirntod nach aktueller Rechtsauffassung das wesentliche Kriterium des bereits eingetretenen Todes darstellt, entspricht der Abschluss der Diagnosestellung und die Dokumentation des Hirntodes - unabhängig vom Zeitpunkt der Beendigung der mechanischen Kreislaufunterstützung oder einer späteren Organentnahme - dem Todeszeitpunkt des Patienten.

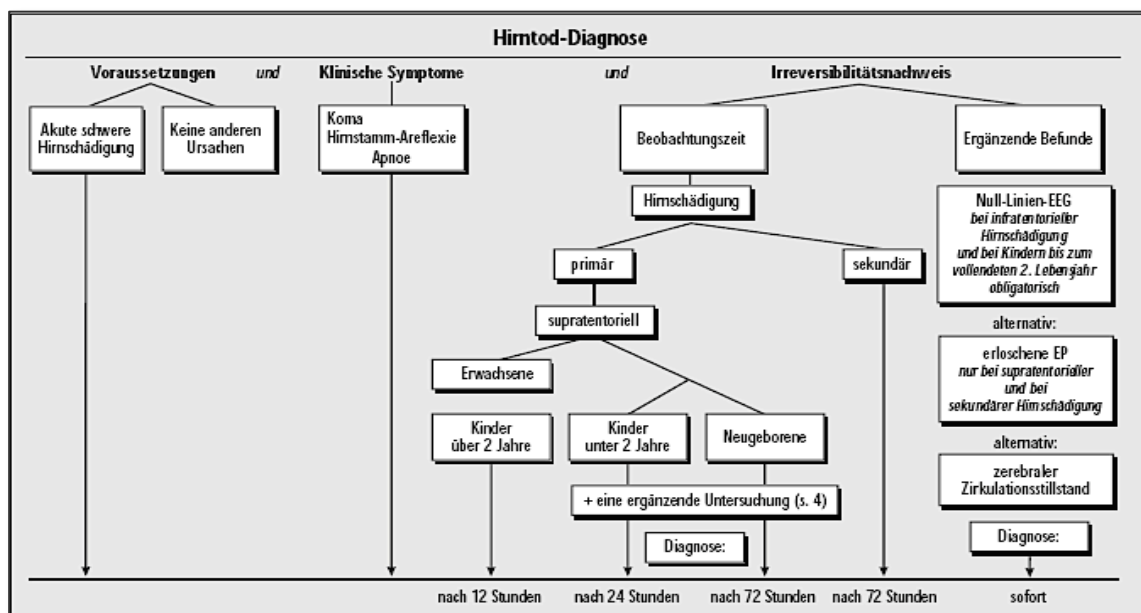


Abbildung 1.1: Dreistufiges Diagnose-Schema zur Feststellung des Hirntodes nach den Richtlinien des Wissenschaftlichen Beirates der Bundesärztekammer (WB-BÄK 1998: S. A1862). Mit freundlicher Nachdruckgenehmigung der Bundesärztekammer (Oktober 2009).

1.4.3 Voraussetzungen zur Feststellung des Hirntodes und differentialdiagnostische Überlegungen

Die Hirntoddiagnostik setzt erstens den zweifelsfreien Nachweis einer primären oder sekundären schweren Hirnschädigung voraus, zweitens müssen mögliche Ursachen oder Mitursachen des Ausfalls der Hirnfunktion im Untersuchungszeitraum ausgeschlossen werden (vgl. WB-BÄK 1998, Oduncu 1998). Hier ist vor allem das Vorliegen von Intoxikationen, dämpfender Wirkung von Medikamenten, neuromuskulärer Blockade (medikamentös oder toxisch bedingt), primärer Hypothermie, Kreislaufschock oder das Vorliegen von Komata endokriner, metabolischer bzw. entzündlicher Genese zu überprüfen¹⁰. In diesen Fällen ist

¹⁰ In der Regel erfordert eine intensivmedizinische Therapie den Einsatz von zentral sedierenden Medikamenten. Es gibt jedoch keine Richtwerte für Benzodiazepin- und Barbituratpiegel im Serum, welche eine zerebrale Restaktivität im EEG

eine Hirntoddiagnostik unmöglich und die ätiologische Aufklärung durch zusätzliche Untersuchungen obligat (vgl. Favre 1996). Differentialdiagnostisch müssen folgende Pathologien ausgeschlossen werden: Locked-in Syndrom, apallisches Syndrom, akinetischer Mutismus, idiopathische Polyneuritis bzw. Polyradikulitis (Guillan-Barré-Syndrom), Hirnstammenzephalitis, Basilaris-Thrombose, Myasthenie oder Katatonie.

Die Untersuchungen müssen von zwei unabhängigen und erfahrenen Ärzten durchgeführt werden. Zweifel an klinischen oder ergänzenden Untersuchungsbefunden erfordern in jedem Fall eine weitere Beobachtung und Behandlung (WB-BÄK 1998, Pallis u. Harley 1996).

1.4.4 Die Diagnostischen Tests: Klinische Zeichen zum Nachweis des Ausfalls der Hirnfunktion (Koma, Hirnstammareflexie und Apnoe)

Die Diagnose eines Hirntodsyndroms ist an die obligate Feststellung der klinischen Kardinalsymptome Koma, Hirnstammareflexie und Apnoe gebunden.

Koma: Nach einem Vorschlag der deutschen interdisziplinären Vereinigung für Intensivmedizin ist der Zustand eines Komas gekennzeichnet durch die Unerweckbarkeit des Patienten mit dem Verlust aller kognitiven Leistungen und elektiven Reagibilität. Jegliche Reaktionen, spontane mimische Äußerungen und Abwehrbewegungen auf Schmerzreize fehlen. Zur Graduierung dieser Bewusstseinsstörung werden unter anderem der „Brüsseler Komagrad“ (Brihaye et al. 1978) oder die „Glasgow Coma Scale“ (Teasdale u. Jennett 1976) verwendet¹¹. Bei dem Vorliegen eines Hirntodes können spontane oder bei Berührung ausgelöste Bewegungen vorkommen, die über eine Enthemmung spinaler Reflexschablonen durch den Wegfall inhibierender Einflüsse des Gehirns auf das Rückenmark entstehen (*Spinalisationsphänomene* - Janzen et al. 1985, *Lazaruszeichen* - Ropper 1984). Sie sind von zerebral induzierten motorischen Reaktionen abzugrenzen. Ebenso können Muskeleigen- und Bauchhautreflexe, Babinski-Zeichen sowie Beugebewegungen des Rumpfes oder der Extremitäten beobachtet werden. Vegetative Symptome (Schwitzen, Tachykardie, Hautrötung, plötzlicher Blutdruckanstieg u.w.) sind häufig vorhanden.

möglicherweise unterdrücken. Ebenso gibt es für die meisten zentral dämpfenden Medikamente keine Dosis-Wirkungsbeziehung.

¹¹ Bei Diagnose des Hirntodsyndroms liegt nach dem Brüsseler Komagrad ein Koma Grad IV (stärkste Ausprägung) vor, die Klassifizierung nach der Glasgow-Coma-Scale (GCS: 3 bis 15 Punkte, je weniger Punkte, desto ausgeprägter die Bewusstseinsstörung) ist zur Beurteilung des tiefen Komas bei Hirntod weniger geeignet. Durch das Vorhandensein spinal vermittelter Spontanbewegungen („zurückziehende Bewegungen“) können beim Hirntod noch 6 Punkte auf der GCS erreicht werden (Moskopp 2005)!

Hirnstammareflexie: Zum Nachweis der erloschenen Hirnstammfunktion wird der Ausfall bestimmter Hirnstammreflexe gefordert¹². Der Funktionszustand des Hirnstamms wird auf unterschiedlichen anatomisch-funktionellen Ebenen überprüft (Schlake u. Roosen 1995, Oduncu 1998). Die Testverfahren sind standardisiert (Pallis u. Harley 1996) und in jeder Klinik ohne apparativen Aufwand durchführbar. Die Testergebnisse werden auf standardisierten Formularen binär (Funktion / Nichtfunktion) dokumentiert. Teilweise lassen sich persistierende Hirnstammreflexe noch nach einer 24-stündigen Periode von isoelektrischem EEG, Koma und Apnoe beobachten (Allen et al. 1978), die Diagnose eines Hirntodsyndroms kann in diesen Fällen unter keinen Umständen gestellt werden.

Apnoe: Der Ausfall der Spontanatmung gilt als wesentlicher Hinweis auf die erloschenen Hirnstammfunktionen (Pendl 1986, Pallis u. Harley 1996). Wegen der physiologischen Wirkung der Hyperkapnie sollte der „Apnoetest“ als letzte klinische Untersuchung durchgeführt werden (Schlake u. Roosen 1995). Ein zentraler Atemstillstand liegt vor, wenn bei pulmonal bisher unauffälligen Menschen bei einem $p_a\text{CO}_2 \geq 60$ mmHg innerhalb von 30 Sekunden (Schlake u. Roosen 1995) bis 2 Minuten (Greenberg 2006) keine Eigenatmung einsetzt. Für Patienten, deren Eigenatmung aufgrund kardiopulmonaler Vorerkrankungen an einen CO_2 -Partialdruck von mehr als 45 mmHg adaptiert ist, gibt es keine allgemein anerkannten Werte des $p_a\text{CO}_2$ für den Apnoetest. Eine zusätzliche apparative Untersuchung ist in diesen Fällen obligatorisch. Für nähere Angaben zur Durchführung des Apnoetests darf auf die Fachliteratur verwiesen werden (WB-BÄK 1998, Weber et al. 2008).

1.4.5 Nachweis der Irreversibilität

Das Diagnoseschema ist empirisch begründet. Bei Erfüllung der Voraussetzungen und Ausschlusskriterien sowie der Feststellung der Hirntodkriterien (Koma, Hirnstammareflexie und Apnoe) konnte das Vorliegen eines irreversiblen Hirntodes bisher in keinem Fall widerlegt werden (Schlake u. Roosen 1995: S. 56, Angstwurm 2000). Eine Wiederholung der Untersuchung als Nachweis der Irreversibilität wird diesbezüglich nicht von allen Autoren gefordert (Pallis u. Harley 1996), zur Erhöhung der diagnostischen Sicherheit aber dennoch von nahezu sämtlichen internationalen Richtlinien zur Hirntoddiagnostik verlangt. Nach den Richtlinien der BÄK (1998) gilt die Irreversibilität des Hirntodes als bestätigt, wenn entweder

¹² Die Richtlinien der BÄK (1998) zur Feststellung des Hirntodes erfordern den Ausfall von Pupillenreflex, okulozephaler Reflex (Puppenkopffänomen), Kornealreflex sowie das Fehlen einer Reaktion auf Schmerzreize im Trigeminusbereich und den Ausfall des Pharyngeal- und Trachealreflexes (dieser fällt als einer der letzten Hirnstammreflexe aus, vgl. Angstwurm u. Kugler 1978).

durch Wiederholung der klinischen Untersuchung nach einem alters- und befundabhängigen Beobachtungszeitraum (12 bis 72 Std., vgl. Abb. 1.1) erneut der Hirntod festgestellt, oder dieser durch apparative Zusatzuntersuchungen (ohne festgelegten Beobachtungszeitraum) nachgewiesen werden kann. Empirisch begründet (Behr et al. 1993) sind als apparative Nachweisverfahren die standardisierte Ableitung eines Elektroenzephalogramms (EEG), die Ableitung akustisch bzw. somatosensibel evozierter Potentiale (EP), die Untersuchung der hirnversorgenden Gefäße mittels Dopplersonographie sowie die zerebrale Perfusionsszintigraphie zulässig. Die Indikationsstellung zur selektiven arteriellen Angiographie setzt die Möglichkeit einer therapeutischen Intervention voraus (WB-BÄK 1998). Obligat ist der apparative Hirntodnachweis bei primären Hirnschädigungen von Kindern bis zum vollendeten 2. Lebensjahr und bei infratentoriellen Hirnschädigungen aufgrund der in einigen Fällen inversen (kaudorostralen) Symptomfolge der Hirnschädigung¹³. Die korrekte Interpretation der erhobenen apparativen Befunde ist wesentlich für ihre Verwertbarkeit (Haupt et al. 1993). Handhabung und Bewertung hängen in hohem Maße von der individuellen Erfahrung und Kompetenz des Untersuchers ab (Weber et al. 2008). Bestimmungen zur Durchführung und Bewertung der apparativen Zusatzuntersuchungen werden von den entsprechenden Fachverbänden vorgegeben (weiterführende Literatur siehe Reimers 2004).

1.5 Epidemiologie und Pathogenese

1.5.1 Zur Ätiologie des Hirntodes

Die Hirntoddiagnostik findet in der Regel nur auf Intensivstationen statt. Schätzungen zufolge liegt die relative Zahl im nicht selektionierten Patientenkollektiv lediglich bei etwa 0,5 (Seehofer 1996a, Angstwurm 1997) bis 1% (Manzei 1997, Schlake u. Roosen 1998) aller Todesfälle. In der Reanimationsklinik der Freien Universität Berlin wurde in den Jahren 1961 bis 1968 ein „*Syndrom des zerebralen Todes*“ in 7,8% der Fälle festgestellt (Schneider et al.

¹³ Nicht immer entwickeln sich die Zeichen des Hirntodes in rostrakaudaler Richtung (Allen et al. 1978). Primär infratentorielle Strukturschäden induzieren einen supratentoriellen Druckanstieg durch eine Behinderung des Liquorabflusses. In diesen Fällen konnte vereinzelt eine elektrophysiologisch evaluierte Großhirnaktivität bei bereits erloschener Hirnstammfunktion nachgewiesen werden (Jørgensen et al. 1973, Robert u. Mummenthaler 1977, Janzen et al. 1985). Daher wird die Bestätigung der erloschenen Großhirnfunktion bei primär infratentoriellen Hirnschädigungen explizit durch eine apparative Zusatzdiagnostik gefordert (WB-BÄK 1998, Abs. 3. und Anm. 1).

Primär supratentorielle Hirnschädigungen induzieren eine rostrakaudal fortschreitende Kompression der intrakraniellen Strukturen, die bioelektrische Aktivität des Großhirns erlischt vor oder gleichzeitig mit den klinisch evaluierten Hirnstammfunktionen (wenige Ausnahmen mit kritischer Wertung z.B. bei Frowein et al. 1985).

1969), die neurochirurgische Intensivstation der Kölner Universitätsklinik vermeldete in den Jahren 1994 bis 1997 die Diagnose „Hirntod“ in 30% der Fälle (Kleindienst et al. 1999). Ohne Zweifel ist die Inzidenz des Hirntodes abhängig von dem Patientengut der jeweiligen Klinik (vgl. Kap. 4.1.3). Nach einer retrospektiven Auswertung durch Heckmann et al. (1996) von 547 Hirntodprotokollen der Neurologischen Universitätsklinik Erlangen fallen etwa 80% der ursächlichen Ereignisse in das Fachgebiet der Neurochirurgie¹⁴ (siehe Abb. 1.2). Nach aktuellen Auswertungen der Deutschen Stiftung Organtransplantation überwiegen jedoch Krankheitsbilder aus dem neurologisch-internistischen Formenkreis, Schädelhirn-traumatisierte Patienten machen nur noch etwa 20% der Organspender aus (siehe Abb. 1.3).

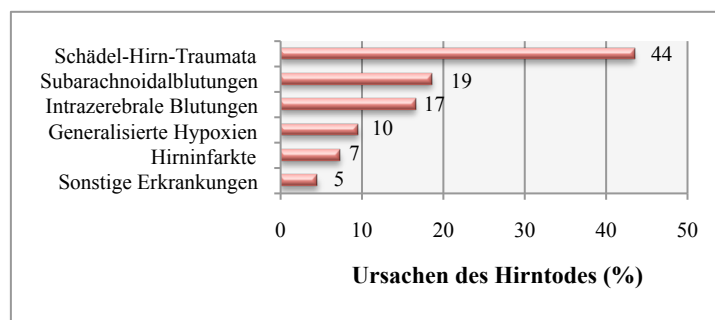


Abbildung 1.2: Häufigkeit der zum Hirntod führenden Ätiologie, n=547, Angaben in Prozent (%). (Modifiziert nach Heckmann et al. 1996)

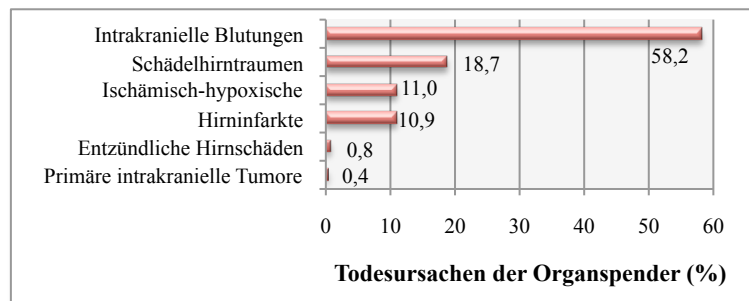


Abbildung 1.3: Todesursachen der Organspender 2008 in Deutschland, n=1198, Angaben in Prozent (%). (Modifiziert nach Doede 2009)

Der Hirntod kann das „*Endstadium ätiologisch verschiedener intrakranieller Prozesse*“ sein (Schneider et al. 1969). Vor pathophysiologischem Hintergrund werden primäre Ursachen (die Struktur des Gehirns direkt betreffend) von sekundären Ursachen (mittelbar zur Schädigung des Gehirns führend) unterschieden (WB-BÄK 1998)¹⁵. Zu den *direkten*

¹⁴ Wobei Schädel-Hirn-Traumata und intrakranielle Blutungen bei Kindern deutlich seltener Ursache eines Hirntodes sind, als bei Erwachsenen (Freeman et al. 1988).

¹⁵ Bei den eigenen Auswertungen werden diejenigen Hirnschädigungen als „primär“ bezeichnet, die als ursächlich für den Hirntod angenommen werden können. Es wird vor allem zwischen „primär traumatischen“ und „primär ischämischen“ Hirnschädigungen unterschieden.

Ursachen zählen Schädel-Hirn-Traumata, raumfordernde Prozesse (z.B. Tumore), zerebrovaskuläre Ereignisse (Blutungen, ischämische Insulte), Entzündungen (Meningitis, Enzephalitis, Arteriopathien) sowie eine akute Behinderung des Liquorabflusses. Unter *indirekten Ursachen* finden sich kardiale Funktionsstörungen (mit daraus resultierendem Blutdruckabfall oder vorübergehendem Kreislaufstillstand), respiratorische Funktionsstörungen (mit vermindertem bzw. fehlendem Gasaustausch), Intoxikationen, metabolische Störungen (mit vermehrtem Anfall toxischer oder vermindertem Vorkommen essentieller Stoffwechselprodukte), Hypoxidosen und Infekte.

Für die klinische Diagnostik ist eine weitere Differenzierung von primär supratentoriellen und primär infratentoriellen Hirnschädigungen relevant (vgl. Fußnote 13).

1.5.2 Pathophysiologische und biochemische Aspekte

Das Gehirn ist gegenüber einer unzureichenden zerebralen Durchblutung (verminderte Sauerstoff- und Substratzufuhr) extrem vulnerabel. Der Energiebedarf ist vergleichsweise enorm, Erregungsbildung und -fortleitung erfordern einen ständigen aktiven Ionentransport zur Wiederherstellung des Membranpotentials¹⁶. Die Energiereserven sind jedoch im Vergleich zum Verbrauch nur sehr gering. Daher ist die Funktion des Gehirns auf eine konstante zerebrale Durchblutung angewiesen, die abhängig ist vom zerebralen Perfusionsdruck (CPP). Dieser wird seinerseits nach der Formel $CPP = MABP - ICP$ ¹⁷ durch den mittleren systemischen Blutdruck (MABP)¹⁸ und den intrazerebralen Druck (ICP) beeinflusst (je größer der ICP, desto kleiner wird also die zerebrale Perfusion, vgl. Oehmichen et al. 2009a: S. 320)¹⁹. Trotz protektiver physiologischer Bedingungen (z.B. Autoregulation der Blutgefäße abhängig vom arteriellen CO₂-Partialdruck des Blutes, vgl. Grote 1995) können zahlreiche pathophysiologische Vorgänge rasch zu einer Reduktion des CPP und so zu einem Energiedefizit des Gehirns führen - mit der Gefahr einer persistierenden, irreversiblen Schädigung der Nerven- und Ganglienzellen²⁰.

¹⁶ Bei 2% Anteil an der Gesamtkörpermasse beansprucht das Gehirn 15% des Herzzeitvolumens und 20% des Gesamtsauerstoffbedarfs des Körpers (Barzo 1996). Der physiologische O₂-Verbrauch des Gehirns beträgt 46 ml/min.

¹⁷ CPP= cerebral perfusion pressure, MABP= medial arterial blood pressure, ICP= intracranial pressure

¹⁸ Der Mittlere arterielle Blutdruck (MABP) ist für periphere Arterien über den diastolischen (PD) und systolischen Blutdruck (PS) in ausreichender Annäherung ermittelbar: $MABP = PD + 1/3 (PS - PD)$.

¹⁹ Sinkt der CPP (durch Erhöhung des ICP oder Verminderung des MABP) für längere Zeit auf Werte unter 6 kPa (45 mmHg), ist eine Reperfusion des Gehirns durch Verschluss der Kapillargefäße ausgeschlossen (Oehmichen et al. 2009a).

²⁰ Der normale zerebrale Blutfluss (CBF) beträgt etwa 750 ml/min., d.h. 50 - 60 ml/100g/min. Sinkt dieser auf unter 25 ml/min/100g ab, kommt es zu Verwirrtheit, Bewusstseinsstörungen und einer Verlangsamung der EEG-Aktivität. Ein CBF von 15 ml/min führt zu Koma und fehlender EEG-Aktivität („Penumbra“ = Grenze der Wiederbelebungsfähigkeit),

Unter Sauerstoffmangel zeigen die Nervenzellen eine unterschiedliche Vulnerabilität abhängig vom Typ des Neurons, seiner Lokalisation sowie von der Blutversorgung durch Kollateralgefäße. Eine Ischämie führt frühzeitig zu neuronalen Veränderungen im Windungstal zwischen erster und zweiter Frontalwindung („Wasserscheide“), im Globus pallidus, im Kortex des Kleinhirns (Purkinje-Zellen) und innerhalb der Ammonshornformation (vgl. Kap. 4.2.1). Die Neurone des zerebralen Kortex (Schicht III, V, VI) und der CA1-Region des Ammonshorns gelten als „selektiv vulnerabel“, da sie auf eine transiente Ischämie besonders sensibel reagieren (Bernaudin et al. 1998, Oehmichen et al. 2009a: S. 273). Als Grundlage der hohen Empfindlichkeit werden unterschiedliche intrinsische Reaktionsverhalten vermutet (Bernaudin et al. 1998), ebenso wie die weitgehend anerkannte „Glutamat-Theorie“, wonach die Neurone der vulnerablen Regionen eine besonders hohe Dichte an Glutamat-Rezeptoren (NMDA-Rezeptoren) aufweisen (Auer u. Siesjö 1988, Smith 2000, Yamamoto et al. 1986). Unter ischämischen Bedingungen können diese Rezeptoren über eine exzitotoxische Kaskade zellschädigend wirken (siehe unten).

Während eine Hypoxie des Hirngewebes keine bleibenden Schäden hinterlässt, verursachen Ischämie und Asphyxie ab einer bestimmten Dauer einen irreversiblen Untergang von Neuronen²¹ - unabhängig von einer späteren Reperfusion (Persson et al. 1989). Die Dauer der Ischämie ist dabei der wesentliche und kritische Faktor der „Reversibilität“ von Funktionsausfällen geschädigter Zellen. Die Wiederbelebenszeit (Zeit zwischen Ischämiebeginn und letztmöglicher Wiederbelebung mit restitutio ad integrum) beträgt bei 37° C und kompletter Anoxie für Neurone des zerebralen Kortex etwa 3 bis 8 Minuten (Hirsch et al. 1957), für Nervenzellen der Kreislauf- und Atemzentren 15 bis 30 Minuten (Stochdorph 1986, Schmidt u. Lang 2007).²² Nach dieser Zeit resultieren irreversible Schädigungen der Hirnzellen (Oehmichen 1990). Exogene Faktoren können die Wiederbelebenszeit verlängern (Hypothermie, hyperbare Oxygenierung) bzw. verkürzen (Hyperthermie, Erhöhung des CO₂-Partialdrucks [vgl. Pendl 1986, Barzo 1996]).

Wesentlich für die Entwicklung eines Hirntodsyndroms ist die verminderte bzw. vollkommen sistierende Perfusion des Gehirns als Ursache und Folge eines fokalen (meist direkter

irreversible Strukturschädigungen sind bei einer Reduktion des CBF auf unter 8 ml/min zu beobachten (Marx 1985, Lassen u. Astrup 1990).

²¹ **Hypoxie** ist definiert durch die Erniedrigung des PaO₂ auf 50 mmHg (der CBF wird autoregulatorisch gesteigert), **Anoxie** durch die Erniedrigung des PaO₂ auf nicht messbare Werte. **Asphyxie** bedeutet einen Anstieg des CO₂-Partialdrucks (der zerebrale Blutfluss wird extrem gesteigert). **Ischämie** wird charakterisiert durch einen transienten oder permanenten Abbruch der gesamten Blutversorgung (der CBF ist vermindert bzw. sistiert).

²² Die in Großbritannien geltenden Kriterien des Stammhirntodes finden unter anderem hier eine Begründung (längere Wiederbelebenszeit der Neurone des Stammhirns im Vergleich zu den Neuronen der Großhirnrinde [vgl. Pallis 1982, Pallis et al. 1996, Facco et al. 1990]).

Ursache) oder generalisierten (meist indirekter Ursache) Hirnödems. Dabei induzieren direkte Hirnschädigungen überwiegend ein „vasogenes Hirnödem“ durch erhöhte Permeabilität der tight junctions der Hirnkapillarendothelien (Blut-Hirn-Schranke), es folgt der Austritt von Plasma (und Plasmaproteinen) in den Extrazellularraum des Hirnparenchyms (interstitielles Ödem). Das perifokale Ödem bedingt zunächst keine irreversible Schädigung des Gewebes (Harding u. Copp 1997): An die primäre, fokale Hirnschädigung grenzt die „Penumbra“ (Astrup et al. 1981), innerhalb derer das Gewebe stark beeinträchtigt und geschädigt ist (fehlende EEG-Aktivität), die Fähigkeit zur Revitalisierung jedoch noch besteht.

Mit Bildung und Ausbreitung des Ödems nimmt der intrakranielle Hirndruck (ICP) zu, der Perfusionsdruck sinkt. Aufgrund der umliegenden, starren Schädelkapsel sind die Möglichkeiten zur Kompensation einer zerebralen Volumenvermehrung (z.B. durch Verdrängung von Liquor aus den Ventrikeln) begrenzt. Besteht keine Möglichkeit mehr zum Ausgleich des Ödems, ist ein akuter Anstieg des ICP die Folge (Langfitt et al. 1965). Die daraus resultierende Kompression zerebraler Gefäße wirkt sich zusätzlich negativ auf den Perfusionsdruck aus. Die Konzentration von Stoffwechselendprodukten im Hirnparenchym steigt, während die Zufuhr von Glukose und Sauerstoff weiter reduziert ist. Elektrolytverschiebungen begünstigen ein zytotoxisches Ödem (im Folgenden erläutert). Der ischämische Prozess wird durch den hirndruckbedingten Ausfall zentraler Regulationsmechanismen für Atmung und Kreislauf noch verstärkt.

Indirekte Hirnschädigungen (vor allem ischämischer Genese) verursachen in erster Linie ein „zytotoxisches Hirnödem“ über einen Zusammenbruch des zerebralen Energiestoffwechsels (erniedrigter CPP, verminderte O_2 und Glukosezufuhr). Das Substrat der oxidativen Phosphorylierung fehlt, der dadurch bedingte Funktionsausfall der ATP-abhängigen Na^+ - K^{2+} -Pumpen der Zellmembranen zieht die rasante Entwicklung einer intra- und extrazellulären Azidose nach sich (Jabre et al. 2000). Der Ionengradient über der Zellmembran (Membranpotential) kann nicht länger aufrecht erhalten werden, durch die Depolarisation kommt es zu einem massiven Einstrom von Kalzium-Ionen in die Zellen. Dies wiederum bedingt eine Aktivierung zellschädigender hydrolytischer Enzyme, was zu einer Schwellung von Lysosomen, vor allem in den Astrozyten führt (vgl. Plesnila et al. 1999, Oehmichen et al. 2009a). Die kalziumabhängige Schädigung des Zytoskeletts geht mit bläschenförmigen Zytoplasmaausstülpungen einher (apikales Zellödem). Durch das Energiedefizit der Nervenzellen kommt es zu einer wesentlichen Beeinträchtigung der Proteinbiosynthese.

Die Folge des osmotischen Ungleichgewichts ist der passive Einstrom von Natrium und

Wasser in das Zytoplasma von Nerven-, Glia- und Gefäßwandzellen (vor allem der Astrozyten und Endothelien). Die Volumenverschiebung von extra- nach intrazellulär verursacht initial keinen Anstieg des ICP. Im Falle ischämischer Störungen sind klinische Symptome von Ausmaß und Länge des Perfusionsdefizites abhängig (Bell et al. 1985). Nach permanenter Ischämie werden die Zellen des Hirnparenchyms jedoch irreversibel geschädigt, was spätestens nach Beeinträchtigung der Endothelzellen zu einem vasogenen Ödem mit Erhöhung des ICP führt (Klatzo 1967). Bei irreversibel geschädigten Zellen kommt es zur Verstärkung des Zellmembranschadens und zum kompletten Ausfall der Protein- und Lipidsynthese (Zatloukal et al. 2004). Tatsächlich ist eine scharfe Trennung der Ödemformen nicht möglich und eine Vielzahl weiterer pathophysiologischer Stoffwechselvorgänge von Bedeutung (für weiterführende Literatur siehe Kimelberg et al. 1997).

Ein weiterer Mechanismus der ischämisch bedingten Zelldepolarisation ist die Ausschüttung des exzitatorischen Neurotransmitters Glutamat. Seine zelltoxischen Wirkungen entfalten sich über die Stimulation von neuronalen NMDA-Rezeptoren, was unter anderem zu einem intrazellulären Kalziumanstieg führt. Komplexe Veränderungen der Ionenverteilung verursachen die Depolarisation weiterer Zellen (Lee et al. 2000, Roggendorf 2002). Proportional zu dem steigenden intrazerebralem Druck sinkt der Perfusionsdruck des Gehirns, die Zirkulation innerhalb der Hirngefäße verlangsamt sich - beginnend im venösen Schenkel - bis hin zur Stase (vgl. Pendl 1986).

Zu diesem Zeitpunkt durchgeführte Wiederbelebungsmaßnahmen (Reperfusion) führen aufgrund des fehlenden venösen Rückflusses initial zu einer kurzen Hyperämie, die durch eine dauerhafte Hypoperfusion des Hirngewebes abgelöst wird. Hier besteht erneut die Gefahr einer Zellschädigung, verursacht durch eine postischämische Freisetzung von Entzündungsmediatoren und Sauerstoffradikalen, der Synthese von Stickstoff (NO) sowie dem Ungleichgewicht des exzitatorischen und inhibitorischen Transmittersystems (Oehmichen et al. 2009a: S. 274).

Durch die intrakranielle Widerstandserhöhung (Käufer 1971), der Schwellung des Gefäßwandendothels sowie durch intravasale Gerinnungsphänomene und Thrombenbildung (Braun 1982) sistiert die zerebrale Durchblutung schließlich auch im arteriellen Schenkel des Hirnkreislaufs. Es resultiert ein isolierter zerebraler Durchblutungsstillstand (Pendl et al. 1972) bei fortgesetzter mechanischer Beatmung des übrigen Körpers und spontaner Herzaktion. Das nicht-perfundierte Gehirn ist die Extremform der „permanenten, globalen Ischämie“, der intrakranielle Zirkulationsstillstand ist irreversibel eingetreten (Oehmichen et al. 2009a: S. 320). Der „*ischämische Totalinfarkt*“ (Schneider et al. 1967, vgl. Ingvar 1973)

führt im weiteren Verlauf zur globalen Nekrose und Autolyse des Hirngewebes²³.

Der morphologisch fassbare Hirntod resultiert pathophysiologisch somit aus einer intrakraniellen Drucksteigerung über den zerebralen Perfusionsdruck hinaus und einer dadurch bedingten - zumindest über einen kritischen Wert hinaus dauerhaften - globalen Ischämie. Der eingetretene Organtod des Gehirns wird klinisch als vollständiger und irreversibler Verlust der Hirnfunktionen (Hirnstammreflexie, Koma, Apnoe) erkennbar.

1.5.3 Demarkationszonen

Der Hirntod ist pathophysiologisch durch einen intrakraniellen Kreislaufstillstand definiert, während unter intensivmedizinischen Bedingungen eine mechanische Beatmung erfolgt und der Blutkreislauf des übrigen Körpers somit aufrecht erhalten werden kann. Bereiche, in denen die Blutversorgung des Körperkreislaufs an das ischämisch geschädigte Hirngewebe grenzt, werden vor allem repräsentiert durch:

- **Das zervikale Rückenmark** (C2-C3): Die versorgenden Arterien (A. spinales anterior, Aa. spinales posteriores) führen im oberen Drittel des Rückenmarks (bis HWK 2/3) Blut aus der A. vertebralis (intrakranielle Gefäßversorgung), während sie in den unteren zwei Dritteln ihren Hauptzustrom von den Aa. radicales (aus der A. subclavia bzw. den segmentalen Arterien der Aorta = extrakranielle Blutzufuhr) erhalten (Schiebler u. Schmidt 2003: S. 792).
- **Die Hypophyse:** Die Versorgung erfolgt über extrakranielle Gefäße (Aa. hypophysiales superiores) aus der A. carotis interna sowie intrakranielle Gefäße (Aa. hypophysiales inferiores) aus dem Circulus arteriosus cerebri (Schiebler u. Schmidt 2003: S. 756)²⁴.
- **Den Nervus opticus:** Der vordere Abschnitt des N. opticus erhält seinen Hauptzustrom über ein piales Gefäßnetz, das aus Zweigen der A. centralis retinae und der A. ophthalmica aus der A. carotis interna gespeist wird (extrakranielle Gefäßversorgung). Sehnervkapillaren eines ziliären Gefäßnetzes (intrakranielle Gefäßversorgung) versorgen den hinteren Abschnitt des Sehnervs. Über die Aa. ciliares posteriores führen sie Blut aus der A. cerebri anterior (Lanz et al. 2004).

Da in den genannten anatomischen Strukturen die extrakranielle Durchblutung an das pathophysiologisch und -morphologisch veränderte - ischämisch geschädigte und eventuell

²³ Käufer (1971: S. 37) hält den Terminus „Totalinfarkt des Gehirns“ in der Pathogenese des Hirntodes für wenig zutreffend, da die „permanente zerebrale Ischaemie bei sonst intakten Kreislaufverhältnissen ... Folge einer perivaskulären Widerstandserhöhung und nicht eines intravasalen Gefäßverschlusses“ sei.

²⁴ Durch Kompression der intrakraniellen Gefäße entwickelt sich eine Vorderlappen-Nekrose.

nekrotisch veränderte - Hirngewebe grenzt, kommt es bei fehlender Durchblutung des Gehirns zur Abstoßung und Ausbildung einer entzündlichen Reaktion mit Nekrotaxis und Infiltration durch neutrophile Granulozyten („Leukozyten-Wall“) sowie durch Makrophagen im Sinne einer „Demarkation“.

Durch die Aktivierung von Phospholipase in den nekrotischen Zellen kommt es zur Freisetzung von Arachidonsäurederivaten (Prostaglandine, Leukotriene), welche Granulozyten und Makrophagen anlocken. Außerdem wirken diese Stoffe vasoaktiv, was hämorrhagische Nekrosen in den Grenzzonen begünstigt (Büttner u. Thomas 2003: S. 51).

Innerhalb des Gehirns finden sich keine reaktiven oder hämorrhagischen Veränderungen - es sei denn, es fand eine (partielle) Reperfusion statt (Pearson et al. 1977, 1978, Schröder 1983). Wird eine Demarkation in sämtlich genannten Arealen beobachtet, so besteht kein Zweifel daran, dass eine Nekrose des gesamten Gehirns eingetreten ist (Oehmichen 1994).

1.6 Mikrotubuli-assoziiertes Protein 2 (MAP2)

Mikrotubuli sind als Komponenten des Zytoskeletts an der mechanischen Stabilisierung, an Transportvorgängen innerhalb einer Zelle und seinen Ausläufern sowie an der Bildung von Mitosespindeln maßgeblich beteiligt. Der Aufbau aus globulären, sich zu einem Dimer zusammenlagernden Proteinmolekülen (alpha- und beta-Tubulin), ermöglicht rasche Auf- bzw. Abbauvorgänge vor allem am (+)-Ende der Filamente. Als Begleitproteine fungieren Mikrotubuli-assoziierte Proteine (MAPs), die diesen Zerfall verhindern können. MAPs sind somit in erster Linie für die Stabilisation und Polymerisation der Mikrotubuli, deren Versteifung und Verknüpfung untereinander sowie mit anderen Komponenten des Zytoskeletts verantwortlich (Lüllmann-Rauch 2003). Außerdem regulieren sie Mikrotubuli-assoziierte Transportvorgänge, sie binden an weitere Komponenten des Zytoskeletts und sind unter anderem über die Verstärkung von Signalproteinen an intrazellulären Stoffwechselvorgängen beteiligt (Dehmelt u. Halpain 2004).

Die MAPs lassen sich in verschiedenen Subtypen aufteilen²⁵. In zerebralem Gewebe kommt vor allem dem Mikrotubuli-assoziierten Protein 2 (MAP2) eine entscheidende Rolle für

²⁵ Die Familie der MAP-Subtypen ist groß. Unter anderem bekannt sind MAP1a, -1b, MAP2a, -2b, -2c, -2d, MAP4 sowie das Protein Tau. Die im Gehirn vorkommenden MAP2a und -2b sind überwiegend in Nervenzellkörpern und Dendriten, Protein Tau vor allem in Axonen von Nervenzellen zu finden. MAP1a und -1b können in sämtlichen Nervenzell-kompartimenten nachgewiesen werden. MAP4 kommt hauptsächlich in sich teilenden Zellen vor, generell jedoch nicht im Hirngewebe. MAP1a findet sich überwiegend in adulten Gehirnen im Gegensatz zu MAP1b, welches hauptsächlich in sich entwickelnden Gehirnen vorkommt (Hirokawa 1994, Tucker 1990, Dehmelt u. Halpain 2004).

Wachstum, Differenzierung und Plastizität von Nervenzellen zu (Johnson u. Jope 1992). Die vier verschiedenen Isoformen des MAP2 (-a, -b, -c, -d) gehen durch alternatives Splicing aus einem Gen (lokalisiert auf Chromosom 2) hervor, welches 20 Exons besitzt. Aufgrund ihres hohen Molekulargewichts (high molecular weight = HMW-MAP2) können die Isoformen MAP2a (280 kDa) und -2b (270 kDa) von den Isoformen mit niedrigem Molekulargewicht (low molecular weight = LMW-MAP2), wie MAP2c (70 kDa) und -2d (75 kDa), differenziert werden. Die Form der HMW-MAP2 wird hauptsächlich in Nervenzellen exprimiert, während die Form der LMW-MAP2 auch in Gliazellen vorkommt (Tucker 1990, Tucker et al. 1989). MAP2b und -2d sind während der gesamten Entwicklung des ZNS nachweisbar, ebenso MAP2a, das jedoch im adulten Gehirn verstärkt exprimiert wird. MAP2c findet sich vorwiegend in embryonalen Gehirnen (Sanchez et al. 2000, Przyborski u. Cambray-Deakin 1995, Doll et al. 1993).

MAP2 ist in der Lage sowohl Mikrotubuli als auch F-Aktin (ein weiteres Strukturprotein des Zytoskeletts) direkt zu binden (Roger et al. 2004). Das Protein besitzt ein C-terminales (Carboxyl-) Ende, wo sich die Bindungsstellen für Mikrotubuli befinden und ein N-terminales (Aminosäure-) Ende, das unter anderem in der Lage ist, mit der Proteinkinase A (PKA) zu interagieren (einem cAMP-abhängigen Schlüsselenzym des Energiestoffwechsels). Bei Reduktion von MAP2 phosphoryliert die PKA cAMP-abhängig Protein-Bindungs-Faktoren. Diese scheinen die Signaltransduktion zu beeinflussen (Harada et al. 2002).

Die Phosphorylierung der MAPs wird durch verschiedene Proteinkinasen und Phosphatasen über second-messenger reguliert, wodurch die Fähigkeit und Affinität der MAPs, an Mikrotubuli zu binden und sie zu stabilisieren, beeinflusst werden kann (Maccioni u. Cambiazo 1995, Sanchez et al. 2000, vgl. Cassimeris u. Spittle 2001, Leterrier et al. 2009). An der Phosphorylierung von MAP2 sind mitogen-aktivierte Proteinkinasen (MAPKs), Ca^{2+} /Calmodulin-abhängige Kinasen (CaMKs) sowie die Proteinkinasen A (PKA) und C (PKC) maßgeblich beteiligt. Über eine Depolarisation der Zelle kommt es zur Freisetzung des exzitatorischen Transmitters Glutamat, dessen Stimulation metabotropher Glutamat-Rezeptoren (mGluRs) vorab genannte Kinasen aktiviert. MAP2 wird phosphoryliert, was die Interaktion mit Mikrotubuli bzw. F-Aktin erschwert. Folglich resultiert eine Abnahme der zytoskeletalen Stabilität (Quinlan u. Halpain 1996). Die höchste Relevanz unter den Kinasen zur Phosphorylierung von MAP2 haben wohl die MAPKs, die über eine Vielzahl exogener Faktoren stimuliert werden. Neben einer Depolarisation und der Aktivierung von mGluRs sind auch Wachstumsfaktoren, Mitogene und ein intrazellulärer Kalzium-Influx in der Lage,

MAPKs zu stimulieren (Cobb et al. 1994, Fiore et al. 1993a, b). Des Weiteren sind MAPKs an der Regulation der Genexpression beteiligt (Cowley et al. 1994).

Die durch Kinasen aktivierte Phosphorylierung von MAP2 ist nur vorübergehend und wird unter anderem abgelöst durch die dephosphorylierenden Eigenschaften der Ca^{2+} /Calmodulin-abhängigen Phosphatase (Calcineurin). Die depolarisationsabhängige Freisetzung von Glutamat führt ebenso zur Stimulierung von NMDA-Rezeptoren, die über die Aktivierung von Calcineurin zur Dephosphorylierung von MAP2 führen. Folglich resultiert eine Zunahme der zytoskeletalen Stabilität (Halpain u. Greengard 1990, Quinlan u. Halpain 1996).

Die Stimulation von NMDA-Rezeptoren geht mit einem massiven Ca^{2+} -Einstrom in die Zellen einher, wodurch Calpain (eine nicht lysosomale Cystein-Protease) aktiviert wird. Dies wiederum führt zur unregulierten Proteolyse verschiedener Proteine mit irreversiblen neuronalen Schäden (Siman u. Noszek 1988, Castillo u. Babson 1998).

MAP2 besitzt jedoch in seiner an Mikrotubuli gebundenen, gering phosphorylierten Form eine deutlich gesteigerte Vulnerabilität gegenüber der proteolytischen Wirkung von Calpain - im Gegensatz zu phosphoryliertem MAP2 (Johnson et al. 1991). Ein MAP2-Expressionsverlust der Nervenzellen wird demnach auf die Calpain vermittelte Proteolyse der MAPs zurückgeführt sowie auf einen Zerfall der Mikrotubuli durch den Einfluss von Kalziumionen (vgl. Kap. 4.2.1). Der intrazelluläre Kalziumanstieg unter ischämischen Bedingungen wurde bereits in Kapitel 1.5.2 erläutert. Die Degeneration von MAP2 durch Calpain stellt somit eine Antwort auf hypoxisch-ischämische Schädigungen dar (Kitagawa et al. 1989, Yanagihara et al. 1990, Tomimoto u. Yanagihara 1992, Kwei et al. 1993, Raley-Susman u. Murata 1995, Malinak u. Silverstein 1996, Ota et al. 1997, Blomgren et al. 1997, Schmidt-Kastner et al. 1998). Des Weiteren bindet MAP2b bestimmte Kalzium-Kanäle direkt (neuronalen L-Typ- Ca^{2+} -Kanäle), welche sich vor allem in Dendriten und neben AMPA-Rezeptoren an postsynaptischen Membranen befinden (Davare et al. 1999).

Andere Studien beschreiben den programmierten Zelltod verschiedener Neurone (Apoptose) bei andauernder Aktivierung von MAPKs²⁶ durch exzitatorische Stimuli (Xia et al. 1995, Shaulian u. Karin 2002), besonders der CA1-Region der Ammonshornformation (Yang et al. 1997). JNK1-defiziente Mäuse weisen eine Hypophosphorylation von MAP2 und damit eine reduzierte Fähigkeit zur Tubulin-Polymerisation auf. Somit ist die Integrität der Mikrotubuli verloren, und axonale sowie dendritische Transportvorgänge versagen. Es resultiert die neuronale Degeneration (Goldstein u. Yang 2000, Chang et al. 2003).

²⁶ Hier wurde die c-Jun NH₂-terminal-Proteinkinase (JNK) aus der Gruppe der MAPKs untersucht.

MAP2 zeichnet sich durch Verlust der neuronalen Immunreaktivität (MAP2-Expressionsverlust) nach Hypoxie bzw. Ischämie als ein sensibler, besonders früh (akut) auf Sauerstoffmangel reagierender Marker aus. Dies wurde in mehreren Studien sowohl an Hirngewebe von Ratten, Rennmäusen und Ferkeln (Kitagawa et al. 1989, Yanagihara et al. 1990, Kwei et al. 1993, Malinak u. Silverstein 1996, Raley-Susman u. Murata 1995, Ota et al. 1997, Schmidt-Kastner et al. 1998, Lingwood et al. 2008) als auch an menschlichem Hirngewebe (Qi et al. 2004, Kühn et al. 2005, Oehmichen et al. 2009c, Wötzel 2009) nachgewiesen.

1.7 Zielsetzungen der vorliegenden Studie

Folgende Fragen sollen beantwortet werden:

I. Mit welcher Häufigkeit können neuropathologische Veränderungen unterschiedlicher Art bei klinischer Diagnose „Hirntod“ aktuell nachgewiesen werden ?

Folgende Untersuchungen werden durchgeführt:

- a) Die Häufigkeit makroskopischer und mikroskopischer Befunde in Fällen eines klinisch bestätigten Hirntodes wird dargelegt.
- b) Die Wertigkeit einzelner Befunde für die neuropathologische Diagnose „Hirntod“ soll erfasst werden.

II. Ist das Auftreten einzelner neuropathologischer Befunde abhängig von dem Ereignis, das Ursache des Hirntodes ist ?

Bestehen Korrelationen zu Lebensalter und Geschlecht ?

Folgende Untersuchungen werden durchgeführt:

- a) Das Gesamtkollektiv wird in kausalen Diagnosegruppen (Trauma, Ischämie, Intoxikation) zugeordnet, die makroskopischen Befunde werden verglichen.
- b) Die Befunde werden bezüglich Lebensalter und Geschlecht verglichen.

III. Haben sich die morphologischen Befunde nach klinischer Diagnose des Hirntodes seit den 60er bis 80er Jahren des letzten Jahrhunderts verändert ?

Folgende Untersuchungen werden durchgeführt:

Die eigenen Ergebnisse werden mit aktuellen Auswertungen und Ergebnissen der 60er bis 80er Jahre verglichen.

IV. Besteht eine Zeitabhängigkeit der makroskopischen und mikroskopischen Befunde ? Ist eine Aussage zum Zeitpunkt des Beginns des intrazerebralen Kreislaufstillstandes möglich ?

Folgende Untersuchungen werden durchgeführt:

Die neuropathologischen Befunde in Fällen eines Hirntodes werden mit der Zeitdauer von der primären Hirnschädigung bis zur klinischen Hirntod-Diagnostik (A-B), mit der Zeitdauer von der klinischen Hirntod-Diagnostik bis zum endgültigen Abbruch der Beatmung (B-C) sowie mit der gesamten Zeitdauer von der primären Hirnschädigung bis zum endgültigen Abbruch der Beatmung korreliert (A-C). Es wird der Versuch unternommen, sich durch diese Korrelation retrospektiv einem Todeszeitpunkt (i.e. dem Beginn des Hirntodes) anzunähern und Rückschlüsse auf den Zeitpunkt des den Hirntod verursachenden Ereignisses zu ziehen.

V. Welche Bedeutung hat die neuronale Expression von MAP2 in der Ammonshornformation für die Diagnose „Hirntod“?

Folgende Untersuchungen werden durchgeführt:

Es wird das Ausmaß der neuronalen MAP-Expression im Ammonshorn von Fällen eines Hirntodes verglichen mit einem Kontroll-Kollektiv (akutes Versterben).

2. Material und Methoden

2.1 Fallmaterial

2.1.1 Übersicht über die Kollektive

Das Untersuchungsmaterial besteht aus einem Gesamtkollektiv von 149 Fällen eines lege artis klinisch diagnostizierten Hirntodes. In sämtlichen Fällen wurde eine fachspezifische neuropathologisch-makroskopische Untersuchung der formalinfixierten Gehirne durchgeführt, in 90 Fällen wurde zusätzlich das Halsmark makroskopisch untersucht (**Gesamtkollektiv: Makroskopie**, n=149, Ahg. A.3).

Aus dem Gesamtkollektiv wurden 53 Fälle zur feingeweblichen Untersuchung der Demarkationszonen (siehe Kap. 1.5.3) zusammengestellt. In diesen Fällen wurde stets das Halsmark (n=53) sowie in einem Teil der Fälle die Hypophyse (n=19) bzw. der Nervus opticus (n=20) untersucht (**Teilkollektiv: Histologie reaktiver Veränderungen**, n=53, Ahg. A.4).

Besondere Aufmerksamkeit wurde in einem weiteren Teilkollektiv den Nervenzellen der Ammonshornformation gewidmet (**Teilkollektiv: Histologie degenerativer Veränderungen**, n=27, Ahg. A.5): Hier wurde die Anzahl MAP2-positiver Nervenzellen innerhalb der Hirntod-Fälle mit einem zusätzlichen Kontrollkollektiv (**Kontrollkollektiv: Histologie degenerativer Veränderungen**, n=17, Ahg. A.6) verglichen, bei dem ein Hirntod nach den Kriterien der Klinik sicher ausgeschlossen werden konnte.

Die Falldaten konnten durch Einsicht in die Krankenunterlagen, die Polizeiprotokolle und die Obduktionsunterlagen erfasst werden. Die Fälle stammen überwiegend aus dem Obduktionsgut des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Lübeck, zum geringeren Teil aus dem gleichnamigen Institut der Universität Kiel und in zahlreichen Einzelfällen aus den rechtsmedizinischen Universitäts-Instituten Berlin, Göttingen, Halle, Heidelberg sowie dem rechtsmedizinischen Institut Bremen.

Durch die fortlaufende, fallspezifische Nummerierung der Fälle des Gesamtkollektivs lassen sich alle vorliegenden Befunde aus dem gesamten Datensatz (Makroskopie und Histologie) einem jeweiligen Fall exakt zuordnen (**Gesamtkollektiv: Akteneinsicht**, Ahg. A.1).

2.1.2 Das Gesamtkollektiv (Hirntod-Kollektiv)

Grundlegende Daten der einzelnen Fälle des Gesamtkollektivs - wie Sektionsnummern, Herkunft, Alter und Geschlecht, die zum Hirntod führende Diagnose sowie die Überlebens- bzw. Hirntodzeiten - sind dem Anhang zu entnehmen (**Gesamtkollektiv: Akteneinsicht**, Ahg. A.1 und **Gesamtkollektiv: Zeitphasen**, Ahg. A.2). Das Gesamtkollektiv der Hirntodesfälle verteilt sich entsprechend dem **Alter** laut Abbildung 2.1, wobei der jüngste Fall das Alter von einem Monat aufwies, der älteste Fall ein Alter von 80 Jahren bei einem mittleren Alter von 38,9 Jahren ($s = \pm 19,8$).

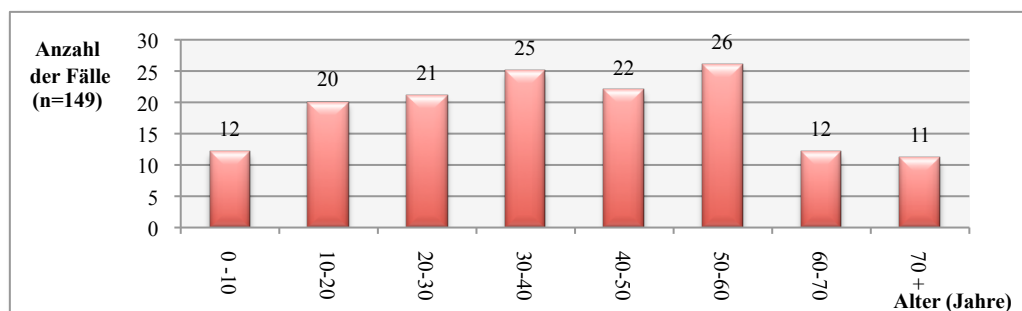


Abbildung 2.1: Verteilung des Gesamtkollektivs nach dem Alter in 10-Jahresschritten

Nach der Ursache des Hirntodes (primäre Hirnschädigung) konnte das Gesamtkollektiv drei verschiedenen **Diagnosegruppen (Dg)** zugeordnet werden:

- I. **Intrakranielle Blutungen, DgI (n=103)**, insbesondere Fälle mechanischer Schädel-Hirn-Traumata (n=42) unter Einbeziehung von Fällen traumatischer Subduralblutungen (n=45), Epiduralblutungen (n=8), Fälle spontaner Subarachnoidalblutungen (n=20) bzw. intrazerebraler Blutungen (n=32).
- II. **Ischämische Hirnschädigungen, DgII (n=38)**, als Folge eines vorübergehenden Kreislaufstillstandes bei Herzinfarkt (n=7), Ertrinken (n=3), Strangulation (n=2), hirnorganischem Anfall (n=3), histotoxischem Ersticken (CO-Vergiftung, n=5), Hirninfarkt (n=3), anderen Formen der generalisierten Ischämie bzw. Asphyxie (n=11) und Übriges (n=4).
- III. **Intoxikationen, DgIII (n=8)**, teilweise exogen (n=7) und teilweise endogen (n=1).

Entsprechend dem **Geschlecht** lassen sich 43 Fälle dem weiblichen, 106 Fälle dem männlichen Geschlecht zuordnen, was in etwa einem Verhältnis von 1:2,5 entspricht.

Unter weiblichem Geschlecht waren 64% der Fälle der Diagnosegruppe (Dg) I, 28% der DgII und 9% der DgIII zuzuordnen - in männlichen Fällen war in 72% die DgI, in 24% die DgII und in 4% die DgIII Ursache des Hirntodsyndroms.

Weiterhin wurden unterschiedliche *Überlebenszeiten* erfasst (Ahg. A.2), wobei durchgehend mit Präzision der Zeitpunkt des endgültigen Kreislaufstillstandes (Beendigung der Beatmung) dokumentiert werden konnte (Zeitpunkt C). In der Mehrzahl der Fälle konnte auch die Zeit des ursächlichen Ereignisses („*Diagnosegruppen*“, Zeitpunkt A) präzise erfasst werden²⁷. Der Zeitpunkt der klinischen Hirntod-Diagnostik (Zeitpunkt B) ist prinzipiell abhängig von der Entscheidung der behandelnden Ärzte, die allerdings erst dann die Maßnahmen zur Hirntod-Diagnostik ergreifen, wenn sie weitgehend sicher sind, dass der Hirntod tatsächlich eingetreten ist. Eine exakte Definition des Todeszeitpunktes ist somit vor klinischem Hintergrund nicht gegeben (vgl. Kap. 1.4.2). Da jedoch das Ausmaß und die Qualität der morphologischen, vor allem der histologischen (degenerativen und reaktiven) Veränderungen unter allen Umständen immer auch von dem Zeitintervall zwischen ursächlichem Ereignis und intrazerebralem Kreislaufstillstand abhängen, wird als Annäherung an dieses Ereignis der Zeitpunkt der ersten ärztlichen Feststellung des Hirntodes berücksichtigt (A-B). Ferner dürfte auch das Intervall zwischen erster Diagnose des Hirntodes und Beendigung der künstlichen Beatmung von Bedeutung sein. Dies wurde, soweit möglich, ebenso erfasst (B-C).

Für das Gesamtkollektiv ergeben sich folgende Verhältnisse, wobei jedoch nicht in allen Fällen eine vollständige Auflistung aller Zeitangaben - aus verschiedenen Gründen - aufgezeichnet werden konnte:

1. **A-C:** Zeitdauer vom ursächlichen Ereignis bis zur Beendigung der Beatmung:
Mittelwert: 137,03 Stunden (Std.; min: 9; max: 2508); n=140
2. **A-B:** Zeitdauer vom ursächlichen Ereignis bis zur 1. Hirntod-Diagnose:
Mittelwert: 74,55 Std. (min: 0,16; max: 996); n=96
3. **B-C:** Zeitdauer von der 1. Hirntod-Diagnose bis zum Abbruch der Beatmung:
Mittelwert: 30,33 Std. (min: 2; max: 192); n=87

²⁷ Ausnahmen bildeten die Patienten, bei denen aufgrund von bereits eingetretenem Bewusstseinsverlust weder eine Eigen-, noch eine Fremdanamnese erhoben werden konnte. Auf Zeitangaben des kausalen Ereignisses wurde in diesen Fällen verzichtet.

2.1.3 Die Teilkollektive

Histologie reaktiver Veränderungen: Es galt, sog. *reaktive Veränderungen* im Bereich der Grenzregionen (Demarkationszonen) zu erfassen (n=53, Ahg. A.4) und deren Auftreten in Abhängigkeit von der Zeit darzulegen. Untersucht wurde das Halsmark, die Hypophyse und der Nervus opticus. Es erfolgte eine Darstellung der reaktiven Zellen im Sinne von neutrophilen Granulozyten mittels des Enzyms Naphthol AS-D Chlorazetat Esterase (NAS-DCIAE) sowie von Makrophagen durch den Nachweis des CD68-Epitops. Nach Alter und Geschlecht ergaben sich für dieses Teilkollektiv folgende Verhältnisse: Mittleres Alter: 40,8 Jahre (min: 10, max: 80), m:w = 41:12.

Histologie degenerativer Veränderungen: Es wurden quantitative Untersuchungen durchgeführt zum *Nachweis der neuronalen Funktion* mittels eines Antikörpers gegen das Mikrotubuli-assoziierte Protein 2 (MAP2), ein Antigen, das bekanntermaßen sehr frühzeitig nach Sauerstoffmangel in Nervenzellen nicht mehr nachweisbar ist (vgl. Kap. 1.6). Die Auswertung erfolgte in insgesamt 27 Fällen eines Hirntodes (Ahg. A.5), wobei sich die Fälle nach Alter und Geschlecht folgendermaßen verteilen: Mittleres Alter: 39 Jahre (min: 11, max: 65), m:w = 20:7.

In einem **Kontrollkollektiv** (n=17, Mittleres Alter: 38,2 Jahre [min: 18, max: 61], m:w = 12:5) wurden Fälle ausgewertet, in denen aus klinischer Sicht praktisch keine ischämische Hirnschädigung vorgelegen hatte. Eingeschlossen wurden Fälle eines „akuten Todes“ ohne bzw. mit möglichst kurzer Phase der Agonie (Ahg. A.6).

2.2 Neuropathologische Untersuchung

2.2.1 Aufarbeitung der Gehirne und Herstellung von Schnittpräparaten

Jeder Einzelfall des Gesamtkollektivs wurde einer gerichtlichen Obduktion unterzogen, wobei alle äußeren und inneren Befunde vor dem Hintergrund der polizeilich ermittelten bzw. klinisch erfassten Angaben protokollarisch und photographisch dokumentiert wurden. Die Gehirne wurden in sämtlichen Fällen histologisch untersucht, in der Regel erfolgten zusätzlich feingewebliche Untersuchungen der Körperorgane. Teilweise wurden außerdem toxikologische bzw. biomechanische Analysen durchgeführt.

In der vorliegenden Untersuchung wurden ausschließlich diejenigen Fälle berücksichtigt, die innerhalb einer Frist von höchstens 48 Std. nach Abbruch der intensivmedizinischen

Behandlung (Kreislaufstillstand) obduziert werden konnten. Äußere Veränderungen der Leiche durch Fäulnis oder Autolyse lagen in keinem der Fälle vor.

Das Gehirn - wie auch in einem Teil der Fälle die Halswirbelsäule - wurde entnommen und für mindestens 14 Tage, überwiegend für 28 Tage zur Gewebefixierung und -konservierung in 4,5%iger, gepufferter Formaldehyd-Lösung nach Lillie eingelegt. Anschließend erfolgte eine weitere detaillierte Befunderhebung von Gehirn und Halsmark. Durch die Anwesenheit eines Fach-Neuropathologen am Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums Schleswig Holstein, Prof. Dr. med. M. Oehmichen, erklären sich auch die Untersuchungen im Auftrag auswärtiger Institute, die sich meist explizit auf das Gehirn - und selten zusätzlich auf das Halsmark - bezogen. Die unterschiedliche Anzahl an Untersuchungen des Halsmarks, der Hypophyse und des N. opticus ist zum Teil durch dieses Vorgehen begründet.

Die makroskopische Untersuchung von Gehirn und Halsmark wurde entsprechend Routine-Methoden durchgeführt (vgl. Oehmichen et al. 2009a), stets fand eine ausführliche Fotodokumentation statt. Die Zerlegung der Gehirne erfolgte allgemein in Frontalschnitten, wobei aus Regionen mit pathologischen Veränderungen (Blutungsbezirken, Erweichungen u.w.) blockweise Gewebe entnommen wurde. Regelmäßig fand eine Asservierung von Hirngewebe bestimmter Lokalisationen statt (frontale Rinde, Ammonshornformation u.w.). Die bis zu 4x2x2 cm großen Gewebeblöcke wurden mit Hilfe des Gewebe-Einbettautomaten Hypercenter XP[®] dehydriert und nach standardisierten Verfahren in Paraffin eingebettet. Nach langsamer Abkühlung dieser Blöcke auf einer Kühlplatte konnten am Schlittenmikrotom (Firma Jung) Paraffinschnitte der zu untersuchenden Regionen von ca. 4µm Dicke gewonnen werden. Nachdem sich diese Schnittpräparate innerhalb kurzer Zeit durch die Oberflächenspannung eines 40° C warmen Wasserbades geglättet hatten, wurden sie falten- und blasenfrei auf beschichtete Objektträger (Super Frost Plus[®], Firma Menzel) aufgezogen und über Nacht in einem auf 37° C beheizten Brutschrank gelagert. Für Gutachtenerstellungen und fallorientierte Bewertungen erfolgte eine detaillierte histologische Aufbereitung der Schnittpräparate unter Anwendung von Routinefärbungen wie Hämatoxylin und Eosin²⁸, Van Gieson, Nissl, Berliner-Blau-Reaktion und weitere - je nach Fragestellung. Speziell für die eigene histologische Aufarbeitung wurden zusätzlich verschiedene enzym- und immunhistochemische Färbemethoden gewählt: NAS-DCIAE, CD68 und MAP2. Bei jedem Färbevorgang wurde eine Positiv-Kontrolle mitgeführt, die das darzustellende Enzym bzw. Antigen sicher exprimiert sowie eine Negativ-Kontrolle, bei der der Primär-

²⁸ Hämatoxylin-Lösung nach Ehrlich; Eosin 1% wässrige Lösung.

Antikörper durch eine Pufferlösung ersetzt wurde (Ausnahme NAS-DCIAE-Färbung: Hier nur Positiv-Kontrolle). Falsch negative und falsch positive Befunde konnten somit ausgeschlossen werden.

Die Färbeprotokolle dieser speziellen Verfahren folgen in jeweils chronologischer Auflistung. Herstellernachweise der Reagenzien, Konzentrate und Lösungen, ebenso wie die Herstellung und Zusammensetzung von Pufferlösungen, Spüllösungen und jegliche Ansätze der Reagenzien (z.B. Antikörper) sowie sämtliche Angaben zu Typ und Herkunft der verschiedenen Geräte und Arbeitsutensilien sind dem Anhang (Ahg. D) zu entnehmen. Alle Reagenzien und Substanzen wurden den Herstellerempfehlungen entsprechend gelagert und nur innerhalb der angegebenen Haltbarkeitszeiten verwendet. Pufferlösungen wurden vor jedem Färbedurchgang frisch angesetzt.

2.2.2 NAS-DCIAE - Darstellung

Die Färbung erfolgt entsprechend den Angaben von Leder (1969). Die Naphtol AS-D Chlorazetat-Esterase (NAS-DCIAE) kann als spezifisch für Zellen der myeloischen Zelllinie betrachtet werden. In formalinfixiertem und in Paraffin eingebettetem Gewebe ermöglicht die enzymhistochemische Sichtbarmachung dieses Enzyms eine selektive Darstellung als zytologischen Nachweis von Zellen der neutrophilen Granulopoese und granulierten Gewebsmastzellen (Leder 1979, Böck 1989, Oehmichen et al. 2009b). Da diese beiden Zelltypen durch die unterschiedliche Kernstruktur leicht zu unterscheiden sind, hat sich diese relativ einfache Methode zur Markierung von Granulozyten bewährt. In Monozyten und Lymphozyten ist die Aktivität der Naphtol AS-D Chlorazetat-Esterase sehr gering bzw. nicht nachweisbar.

Das in dieser Studie angewendete Verfahren zum Nachweis von neutrophilen Granulozyten bediente sich des Farbe-Kitts 91-C der Sigma-Aldrich Chemie GmbH (siehe Ahg. D) und richtete sich nach den Anweisungen des Herstellers (Verfahren Nr. 91). Als Positivkontrollen wurden Schnittpräparate des humanen Knochenmarks eingesetzt.

Färbeprotokoll zur Darstellung von NAS-DCIAE in neutrophilen Granulozyten:

1. alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen und eine ausreichende Menge Aqua dest. zur Verwendung als Substrat auf 37 °C vorwärmen
2. Entparaffinierung der Schnittpräparate in frischem Xylolbad (15 Min.), Xylol wechseln und Vorgang wiederholen (15 Min.)

3. Rehydrierung in absteigender Ethanolreihe (2x5 Min. 100% Ethanol, gefolgt von jeweils 5 Min. 96%, 80% und 70% Ethanol) und Aqua dest. (5 Min.)
4. 0,1ml Fast Red Violet LB und 0,1ml Natriumnitrit-Lösung unmittelbar vor Anwendung in einem Becherglas sorgfältig durch Schwenken mischen, für 2 Min. stehen lassen
5. 4ml auf 37 °C vorgewärmtes Aqua dest. (siehe 1.) der Lösung aus Schritt 4. hinzugeben
6. 0,5ml TRIZMAL-Pufferkonzentrat pH 6,3 der Lösung aus Schritt 5. hinzugeben (Lösung ist gelb)
7. 0,1ml Naphtol AS-D Chlorazetat-Lösung der Lösung aus Schritt 6. hinzugeben, gut mischen (Lösung sollte rot werden) und filtrieren
8. Applikation der Lösung aus Schritt 7. auf die zu untersuchenden Schnittpräparate, diese vor Licht geschützt und unter einem Deckglas für 20 Min. bei 37 °C im Brutschrank inkubieren
9. gründliches Spülen der Präparate mit Aqua dest. (2 Min.)
10. Gegenfärben der Zellkerne durch 5-min. Eintauchen in Hämalaunlösung nach Mayer und Bläuen unter fließendem Leitungswasser (10 Min.)
11. Eindecken der Schnittpräparate mit wässrigem Eindeckmittel (Aquatex[®])

2.2.3 CD68 - Darstellung

Das CD68-Protein (CD68-Antikörper Clone PG-M1 [DakoDenmark A/S, Glostrup]) ist ein hochglykolysiertes Typ-I-Transmembran-Protein mit einem Molekulargewicht von 110 kDa. Es zählt zu einer Familie von Lysosomal-Glykoprotein- / Plasmamembran-Shuttleproteinen (LAMP) und findet seine Bedeutung bei der Endozytose bzw. beim lysosomalen Trafficking (Goyert 1997, Micklem et al. 1989). In zytoplasmatischen Granula wird CD68 stark exprimiert, auf der Oberfläche von Makrophagen, Monozyten, Neutrophilen, Basophilen und NK-Zellen jedoch, ebenso wie von etwa 40% der B-Lymphozyten im peripheren Blut und im nicht-hämatopoetischem Gewebe (Leber, Nierenglomeruli), nur sehr gering. Im Vergleich zu den meisten anderen CD-Leukozyten-Antigenen weist das CD68-Molekül eine enorme Heterogenität auf, sodass verschiedene Antikörper gegen CD68 unterschiedliche zelluläre Reaktionen aufzeigen können.

Der in vorliegenden Studien verwendete CD68-Antikörper Klon PG-M1 ist ein monoklonaler IgG3-Antikörper (Isotyp kappa) von der Maus und wird gebrauchsfertig von der Dako

Deutschland GmbH zur In-vitro-Diagnostik in flüssiger Form in einem Puffer geliefert. Der Klon PG-M1 ist im Gegensatz zu anderen Klonen (z.B. KP1, EBM11, Ki-M6) durch eine hohe Spezifität für Makrophagen und Monozyten charakterisiert, indem er ein fixiermittelresistentes Epitop auf der makrophagen-beschränkten Form des CD68-Antigens nachweist (Pulford et al. 1989). Myeloide Vorläuferzellen, Granulozyten und dendritische Zellen werden nicht angefärbt.

Zur Verstärkung des immunozytochemischen Nachweises des primären Antikörpers wurde der StreptABComplex / HRP Duet Mouse/Rabbit der Firma DAKO Cytomation verwendet: Nach sequentieller Anwendung des biotinylierten Sekundärantikörpers folgte die Applikation eines Komplexes von Streptavidin und biotinylierter Peroxidase (Hsu u. Raine 1981). Zur Visualisierung des antigenen Antikörperkomplexes diente eine chromogene Peroxidase-Substratlösung.

Als Positivkontrolle diente bei dieser Färbemethode das Schnittpräparat einer humanen Gaumenmandel (Tonsilla pharyngea).

Färbeprotokoll zur Darstellung des auf Makrophagen beschränkten Epitops CD68 durch den Antikörper CD68, Klon PG-M1:

1. Entparaffinierung der Schnittpräparate in frischem Xylolbad (15 Min.), Xylol wechseln und Vorgang wiederholen (15 Min.)
2. Rehydrierung in absteigender Ethanolreihe (2x5 Min. 100% Ethanol, gefolgt von jeweils 5 Min. 96%, 80% und 70% Ethanol) und Aqua dest. (5 Min.)
3. Tris-Pufferlösung (pH 7,4 - 7,6 Spülpuffer, Ansatz siehe Anhang D.2) 5 Min. in Glasküvette
4. Citrat-Pufferlösung (pH 6) in Kunststoffküvetten per Mikrowelle aufkochen (1-2 Min. bei max. Temperatur [800W], Ansatz für 150 ml siehe Anhang D.2)
5. Schnittpräparate in Lösung aus 4. einsetzen und bei 70 °C im Brutschrank für 1 Std. inkubieren = hitzeinduzierte Antigen-Demaskierung (60 Min.)
6. Schnittpräparate auskühlen lassen (10 Min.), spülen mit Aqua dest. (Spritzflasche)
7. Tris-Pufferlösung (in Glasküvette, 5 Min., 1x wechseln)
8. Blocken der Endogenen Peroxidase-Aktivität in 3% H₂O₂ (15 Min.), in dieser Zeit Ansetzen des Primärantikörpers CD68, Klon PG-M1 mit einer Verdünnung von 1:100 (Antikörper : Antikörperverschüttungsmedium)
9. Tris-Pufferlösung (gründlich spülen, einsetzen in Glasküvette, 5 Min., 1x wechseln)

10. Applikation des verdünnten Primär-Antikörpers CD68, Klon PG-M1 auf die Objektträger und Inkubation in feuchter Kammer bei Raumtemperatur (Inkubationszeit 60 Min.)
11. Siehe 9.
12. Applikation des verdünnten Sekundär-Antikörpers (biotinylierter, affinitätsisolierter Brücken-Antikörper aus der Ziege, Verdünnung 1:100 mit Antikörper-verdünnungsmedium) auf die Objektträger in feuchter Kammer bei Raumtemperatur (Inkubationszeit 30 Min.)
13. Siehe 9.
14. Applikation von mit Peroxidase-konjugiertem Streptavidin in feuchter Kammer bei Raumtemperatur (zwecks Komplexbildung den Ansatz mindestens 15 Min. vor Einsatz ansetzen, Verdünnung 1:100 in Trispuffer, Wirkungszeit 30 Min.)
15. Siehe 9.
16. Farbentwicklung unter Induktion der Meerretich-Peroxidase-Reaktion durch Applikation von AEC (3-Amino-9-Ethylcarbazol)-Chromogenlösung (Zytomed), farbloses Chromogen wird durch die Aktivität der Peroxidase in ein farbiges Enzymprodukt umgewandelt. Ansatz AEC binnen 30 Min. vor Auftrag (Wirkungszeit bis zu 30 Min., mikroskopische Kontrolle ist ratsam, um extreme Farbentwicklungen evtl. früher abzustoppen)
17. Abstoppen der Farbentwicklung in Aqua dest.
18. Gegenfärben der Zellkerne durch 5-min. Eintauchen in Hämalaunlösung nach Mayer und Bläuen unter fließendem Leitungswasser (10 Min.)
19. Eindecken der Schnittpräparate mit wässrigem Eindeckmittel (Aquatex[®])

2.2.4 MAP2 – Darstellung

Das Vorkommen von Mikrotubuli-assoziierten-Proteinen (MAPs) und ihre Bedeutung für den Aufbau und die Funktion von Komponenten des neuronalen Zytoskeletts (Mikrotubuli) wurde ausführlich in Kapitel 1.6 erläutert.

Nach Funktion und zell- bzw. zellausläuferspezifischem Auftreten lassen sich MAPs in verschiedene Subgruppen klassifizieren. Das in vorliegende Untersuchungen einbezogene MAP2 ist vor allem in Dendriten und Perikarya von Nervenzellen lokalisiert. Ein hochmolekulares Paar dieses Proteins, MAP 2a,b (280 kDa) kann durch den hier eingesetzten Primärantikörper MAP 2a,b Ab-2, Klon AP20 (Dianova GmbH Hamburg) höchst spezifisch

nachgewiesen werden. Es handelt sich dabei um einen monoklonalen Antikörper des Isotyps IgG1, der keine Kreuzreaktionen mit MAP1, MAP5, Tubulin, Tau oder der niedermolekularen Form MAP 2c (70 kDa) aufweist. Als Immunogen diente Mikrotubuli-assoziiertes Protein aus Rinderhirn, die kommerzielle Produktion erfolgte über in-vitro-Kulturen von Hybridomzellen (Fusionierung von B-Lymphozyten und Myelomzellen der Maus). Die Gewinnung aus Mäuseaszitis ist heute aus Tierschutzgründen verboten. Der Klon AP20 wurde 1994 klassifiziert (Kalcheva et al. 1994), das korrespondierende Epitop beinhaltet die Aminosäuren 995-1332 des humanen MAP2-Moleküls. Als Sekundärreagenz wird ein biotinylierter Antikörper aufgetragen, der gegen das FC-Fragment des Primärantikörpers gerichtet ist. Der Sekundärantikörper stellt so die Verbindung zwischen Primärantikörper und Tertiärreagenz her und wird dementsprechend auch als „Brückenantikörper“ bezeichnet. Peroxidase-konjugiertes (Strept)Avidin (nicht-biotinyliert) dient als Tertiärreagenz und stellt die Verbindung zum biotinylierten Brückenantikörper dar. Die Farbreaktion wird nach Zugabe von Chromogen durch Peroxidase katalysiert und führt zu einem unlöslichen, farbigen Niederschlag (LASB-Methode). Als Positiv-Kontrolle fanden Schnittpräparate der frontalen Großhirn-Rinde eines Falles Anwendung, der an einer akuten Verblutung verstorben war.

Färbeprotokoll zur Darstellung des Antigens MAP 2a,b in Nervenzellen durch den Antikörper MAP 2a,b Ab-2, Klon AP20:

1. Entparaffinierung der Schnittpräparate in frischem Xylolbad (15 Min.), Xylol wechseln und Vorgang wiederholen (15 Min.)
2. Rehydrierung in absteigender Ethanolreihe (2x5 Min. 100% Ethanol, gefolgt von jeweils 5 Min. 96%, 80% und 70% Ethanol) und Aqua dest. (5 Min.)
3. Tris-Pufferlösung (pH 7,4 - 7,6; Spülpuffer, Ansatz siehe Anhang D.2) 5 Min. in Glasküvette
4. Schnittpräparate in Citrat-Pufferlösung (pH 6) einsetzen und per Mikrowelle aufkochen (pro Küvette 1 Min. bei max. Temperatur (800 W), gefolgt von 9 Min. bei 90 W) = hitzeinduzierte Antigen-Demaskierung (10 Min.)
5. Schnittpräparate abkühlen lassen (10 Min.), spülen mit Aqua dest. (Spritzflasche)
6. Tris-Pufferlösung (in Glasküvette, 9 Min., 3x wechseln)
7. Blocken der Endogenen Peroxidase-Aktivität in 3% H₂O₂ (15 Min.), in dieser Zeit Ansetzen des Primärantikörpers MAP 2a,b Ab-2 (Klon AP 20) mit einer Verdünnung von 1:100 (Antikörper : Antikörperverdünnungsmedium)

8. Tris-Pufferlösung (gründlich spülen, danach einsetzen in Glasküvette, 9 Min., 3x wechseln)
9. Applikation des Primär-Antikörpers MAP 2a,b Ab-2 (Klon AP 20) auf die Objektträger in feuchter Kammer bei Raumtemperatur (Inkubationszeit 60 Min.)
10. Siehe 8.
11. Applikation des verdünnten Sekundär-Antikörpers (Brücken-Antikörper, biotin-konjugierter Ziege-anti-Maus/Kaninchen-Antikörper, Verdünnung 1:1000 mit Antikörperverschüttungsmedium) auf die Objektträger in feuchter Kammer bei Raumtemperatur (Inkubationszeit 30 Min.)
12. Siehe 8.
13. Applikation von mit Peroxidase-konjugiertem Streptavidin in feuchter Kammer bei Raumtemperatur (Ansatz dieses Komplexes binnen 15 Min. vor Einsatz, Verdünnung 1:500 mit Tris-Puffer, Wirkungszeit 30 Min.)
14. Siehe 8.
15. Farbentwicklung unter Induktion der Meerretich-Peroxidase-Reaktion durch Applikation von AEC (3-Amino-9-Ethylcarbazol)-Chromogenlösung (Zytomed), farbloses Chromogen wird durch die Aktivität der Peroxidase in ein farbiges Enzymprodukt umgewandelt. Ansatz AEC binnen 30 Min. vor Auftrag (Wirkungszeit bis zu 30 Min., mikroskopische Kontrolle ist ratsam, um extreme Farbentwicklungen evtl. früher abzustoppen)
16. Abstoppen der Farbentwicklung in Aqua dest.
17. Gegenfärben der Zellkerne durch 5-min. Eintauchen in Hämalalaunlösung nach Mayer und Bläuen unter fließendem Leitungswasser (10 Min.)
18. Eindecken der Schnittpräparate mit wässrigem Eindeckmittel (Aquatex[®])

2.3 Histologische Anatomie von Ammonshorn und Rückenmark

2.3.1 Die Ammonshornformation

Der Hippokampus retrocommissuralis (Hippocampus im engeren Sinne) liegt innerhalb des Lobus temporalis an der Medialseite des Gyrus parahippocampalis in der Tiefe. Als Teil des Allocortex rollt sich der Hippocampus entwicklungsgeschichtlich um einen längs verlaufenden Sulcus hippocampalis und wölbt sich in das Unterhorn des Seitenventrikels vor.

Es lassen sich im Wesentlichen drei hippocampale Abschnitte unterteilen:

- Gyrus dentatus (Zahnkern)
- Cornu ammonis (Ammonshornformation)
- Subiculum

Neben dem Aufbau des Periarthocortex (Schichtenbau zwischen Archi- und Neocortex), zu dem das Presubiculum, das Parasubiculum sowie die Regio entorhinalis zählen, werden der Gyrus dentatus und das Cornu ammonis zytoarchitektonisch dem Archi- bzw. Paleocortex zugeordnet.

Der histologische Aufbau der Ammonshornformation ist dreischichtig:

- I. Stratum radiatum-lacunosum-molekulare (apikale Dendriten der Pyramidenzellen)
- II. Stratum pyramidale (Perikarya der Pyramidenzellen)
- III. Stratum oriens (auch Stratum basale genannt, Dendriten der Pyramidenzellen), grenzt zur ventrikulären Oberfläche an den Alveus hippocampi, der vor allem Axone der Pyramidenzellen führt und sich in den Fornix fortsetzt

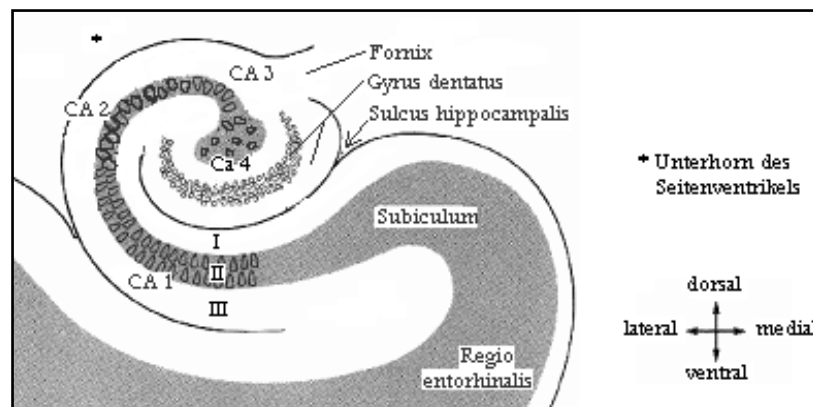


Abbildung 2.2: Schematische Darstellung der Regionen der Ammonshornformation

Anhand der unterschiedlichen Architektur der Histologie dieser Schichten, der Größe der Perikarya, der Zelldichte und der Schichtbreite lässt sich die Ammonshornformation in weitere Subregionen charakterisieren:

- **CA4-Region** (von Cornu Ammonis): Umgeben vom Gyrus dentatus, aufgelockerte Zellregion von Nervenzellen. Aufgrund funktioneller und anatomischer Aspekte ist eine Zusammenfassung der CA4-Region mit dem Stratum multiforme des Gyrus dentatus sinnvoll (=Hilus fasciae dentatae).
- **CA3-Region:** Breites, lockeres Band großer Pyramidenzellen.

- **CA2-Region:** Das Stratum pyramidale erscheint aufgrund der dichten Anordnung der Perikarya schmal.
- **CA1-Region:** Kleinere Pyramidenzellen, lockere Anordnung mit Übergang in das Subiculum.

2.3.2 Das Halsmark

Die im Inneren des Organs gelegene graue Substanz (Substantia grisea) ist im Querschnitt durch die typische Schmetterlingsform charakterisiert, die durch Vorder- und Hinterhorn (im unteren Halsmark auch Seitenhorn, siehe Abb. 2.3) beider Seiten gebildet wird. Die mediale Verbindung ist die Commissura grisea, die den Zentralkanal umschließt und ventral von der Commissura alba begleitet wird, in der viele Fasern der weißen Substanz die Seite kreuzen. Die graue Substanz besteht im Wesentlichen aus den Perikarya von Nervenzellen. Der Raum zwischen den Perikarya wird als Neuropil bezeichnet, welches vor allem Dendriten, Axone und Gliazellfortsätze enthält. Auf die zytoarchitektonische Gliederung in verschiedene Laminae und die verschiedenen Zellgruppen des Halsmarks soll hier - da für vorliegende Studien von geringerer Bedeutung - nicht näher eingegangen werden.

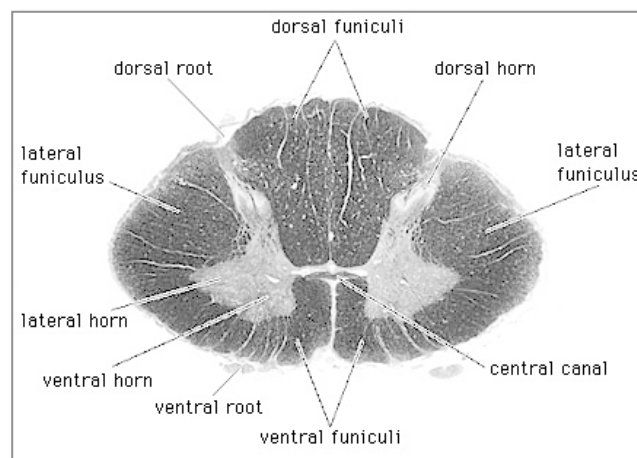


Abbildung 2.3: Rückenmarksquerschnitt in Höhe des unteren Zervikals. Färbungsbedingt stellt sich die weiße Substanz hier dunkel dar (modifiziert nach Haines 1991).

Die weiße Substanz (Substantia alba) gliedert sich beidseits symmetrisch in Vorder-, Seiten- und Hinterstrang. Sie besteht aus überwiegend myelinisierten Nervenfasern, die als Bündel (Tractus) afferente und efferente Leitungsbahnen bilden. Des Weiteren kommen Gliazellen vor, wobei sich besonders perivaskulär und subependymal Astrozytenfortsätze nachweisen lassen (mechanische und metabolische Aufgaben).

An das Rückenmark treten posterior die dorsalen, sensiblen Spinalnervenzurzeln heran, von der Vorderseite verlassen die ventralen Spinalnervenzurzeln, hauptsächlich motorischer Qualität, das Rückenmark. Umschlossen wird der Teil des zentralen Nervensystems von den drei Rückenmarkshäuten: Die Dura mater spinalis, zwischen deren Blättern sich der mit Fettgewebe und Venen ausgefüllte Epiduralraum befindet, die Arachnoidea mater spinalis, deren äußeres Blatt der Dura anliegt (dazwischen befindet sich ein kapillärer Spalt, das Spatium subdurale) und deren inneres Blatt durch den mit Liquor gefüllten Subarachnoidalraum von der Pia mater spinalis getrennt wird. Die Pia mater spinalis bedeckt die marginale Gliaschicht der weißen Substanz des Rückenmarks. Das Zervikalmark stellt eine Grenzregion zwischen intra- und extrakranieller Durchblutung dar und ist somit bei dem Vorliegen einer globalen Hirnischämie von besonderem Interesse (vgl. Kap. 1.5.3).

2.4 Morphologische Diagnostik und Auswertung

2.4.1 Makroskopischer Befund

Das Gehirn: Bei der makroskopischen Untersuchung wurde zunächst das *Hirngewicht* berücksichtigt, das auch in Relation zum physiologischen (anatomischen) Hirngewicht des jeweils gleichen Geschlechts und Lebensalters gestellt wurde. Weiterhin wurden Zeichen eines erhöhten *Hirndrucks* erfasst: Verstrichene Furchen, glatte Gyri, Druckfurchen der Hippokampusformation und der Kleinhirntonsillen (Druckkonus), wobei die Druckfurchen teilweise hämorrhagisch infarziert bzw. bereits nekrotisch verändert sein konnten. Die Brücke wurde auf druckbedingte Blutungen und Nekrosen untersucht, der Okzipitallappen explizit auf eine hämorrhagische Infarzierung.

Das Halsmark: Bei der makroskopischen Befunderhebung des Halsmarks wurden nicht-traumatische Blutungen und Zeichen der Nekrose ebenso erfasst wie nekrotisches Kleinhirngewebe im Subduralraum bzw. im Subarachnoidalraum (SAR). Sekundäre Einblutungen in den Subdural- bzw. Subarachnoidalraum wurden gesondert dokumentiert.

2.4.2 Mikroskopischer Befund

Halsmark – reaktive Veränderungen

Die mikroskopische Auswertung erfolgte unter einem Lichtmikroskop der Firma Zeiss bei 200- bis 400-facher Vergrößerung.

Die Schnittpräparate des Halsmarks wurden einerseits durch den enzymhistochemischen Nachweis der NAS-DC1AE auf das Vorhandensein von neutrophilen Granulozyten untersucht, andererseits konnte immunhistochemisch durch Antigen-Antikörper-Reaktionen des CD68-Proteins die Invasion von Makrophagen in das Nervengewebe nachgewiesen werden. Neutrophile waren als kleine, granuliert und polymorphkernige Zellen mit intensivem roten Farbniederschlag deutlich erkennbar (NAS-DC1AE), ebenso ließen sich große, rot markierte und teilweise mit Granula besetzte oder aggregierte Makrophagen (CD68) ohne Verwechslungsmöglichkeiten differenzieren. Die Untersuchungen wurden getrennt voneinander ausgewertet und dokumentiert. Je nach Vorkommen genannter Zellen im Neuropil des Halsmarks wurde das Untersuchungsmaterial als positiv (5 oder mehr markierte Zellen) bzw. negativ (keine reagierenden Zellen nachweisbar) befundet. Zellen, die topographisch nahe des Intravasalraums oder angrenzend an parenchymale Blutungsbezirke gelegen waren, wurden nicht berücksichtigt. Neutrophile Granulozyten oder Makrophagen, die in der Leptomeninx angetroffen werden konnten, wurden nach genanntem Prinzip gesondert dokumentiert. Neben dem Auftreten von Makrophagen und Neutrophilen in Neuropil bzw. im Subarachnoidal- und Subduralraum wurde das Zervikalmark explizit auf Blutungen, eine fehlende Kernanfärbung als Zeichen einer Marknekrose und auf die Abtropfung von Kleinhirngewebe in den Halswirbelkanal (als Folge einer Nekrose der Kleinhirntonsillen) untersucht. Es wurden neben Querschnittpräparaten auch längsverlaufende Schnittpräparate zur Auswertung herangezogen.

Im Zentrum der Studien standen neben dem Halsmark auch die Hypophyse sowie der N. opticus, die als Grenzregionen zwischen extra- und intrakranieller Blutversorgung auf reaktive Veränderungen im Sinne einer Invasion von Leukozyten oder Makrophagen in das Parenchym. Außerdem wurden genannte Strukturen auf hirndruckbedingte Blutungen und Gewebenekrosen untersucht.

Die Auswertung der Schnittpräparate erfolgte unter einem Lichtmikroskop der Firma Zeiss bei 200- bis 400-facher Vergrößerung (Axioscope, Firma Zeiss, Jena). Die fallspezifische Auswertung wurde in tabellarischer Form im Anhang (Ahg. A4) aufgeführt.

Ammonshorn – degenerative Veränderungen

Basierend auf der anatomischen Einteilung der Ammonshornformation wurden die Segmente CA1 bis CA4 separat voneinander untersucht. Da kurzfristig (innerhalb von Minuten) nach Ischämie die Reagibilität der Nervenzellen mit dem Antikörper MAP2 schwindet, stellt sich in vorliegenden Untersuchungen die Frage nach der Anzahl noch positiv reagierender

Neurone. Daher erfolgte eine prozentuale Erfassung der das Antigen exprimierender Neurone sowohl des Hirntod- als auch des Kontrollkollektivs. In jedem Segment wurden 100 Nervenzellen ausgezählt, die je nach zytoplasmatischem Farbniederschlag als MAP2-positiv bzw. MAP2-negativ bewertet wurden. Die Auszählung der Präparate erfolgte unter einem Lichtmikroskop der Firma Zeiss bei 400-facher Vergrößerung. Um die Erfassung der Zellzahlen zu erleichtern, wurde ein manuelles Zählgerät (Assistent Counter AC-8, Firma Karl Hecht) verwendet. Eine deutliche Abgrenzung MAP2-positiver von MAP2-negativen Neuronen war insgesamt ohne Schwierigkeiten möglich. Ebenfalls ließen sich MAP2-negative Neurone insgesamt ohne Schwierigkeiten von anderen Zellen und Gewebestrukturen differenzieren. Die detaillierten Ergebnisse der Auszählung sind im Anhang (A.5 und A.6) tabellarisch aufgelistet.

Die Auszählung sämtlicher Präparate der MAP-, NAS- und CD68- Darstellungen erfolgte blind, d.h. ohne Kenntnis des jeweiligen, dem Objekt zugehörigen Kollektivs (Hirntod- vs. Kontrollkollektiv) und damit ohne Kenntnis jeglicher fallspezifischer Diagnosen, Befunde und Beatmungszeiten.

2.4.3 Statistische Auswertung

Da es sich bei vorliegender Arbeit vor allem um deskriptive Studien handelt, wurden anhand der makroskopischen und mikroskopischen Befunde *Häufigkeitstabellen* erstellt, die qualitative Aussagen über die Fallzahl der positiv bewerteten Befunde erlauben und deren Häufigkeiten (absolut und in Prozent) angeben.

Die statistischen Berechnungen folgten einem explorativen Ansatz, geprüft wurde mit zweiseitiger Fragestellung. Eine Normalverteilung des zugrundeliegenden Fallmaterials war nicht anzunehmen. Um statistisch signifikante Unterschiede der morphologischen Befunde innerhalb einzelner Diagnosegruppen, Altersklassen oder einer Abhängigkeit der Befunde vom Geschlecht nachzuweisen, wurden Kreuztabellen der Ergebnisse dem *Exakten Test nach Fisher* unterzogen, wobei Unterschiede als signifikant betrachtet wurden, wenn der p-Wert $\leq 0,05$ war. Der Exakte Test nach Fisher wurde hier aufgrund der teilweise niedrigen Besetzungszahlen als Spezialtest des Chi Quadrat gewählt.

Die statistischen Auswertungen der histologischen Untersuchungen MAP2-exprimierender Neurone innerhalb der Ammonshornregion basieren auf dem Anteil MAP2-positiv bewerteter Neurone (prozentuale Erfassung). Zur Signifikanzüberprüfung wurden aufgrund der unbekannten Verteilung des Fallmaterials nichtparametrische Verfahren eingesetzt.

Folgende Testverfahren fanden Anwendung:

Friedman-Test: Unterschiede der Anzahl MAP2-positiver Neurone innerhalb der verschiedenen CA-Regionen des Hirntod-Kollektivs konnten durch diesen Test aufgezeigt werden. Er findet bei einem Vergleich von mehr als zwei abhängigen Stichproben Anwendung, die Irrtumswahrscheinlichkeit lag hier bei 5% (somit ist eine statistische Signifikanz bei $p \leq 0,05$ gegeben).

Wilcoxon-Vorzeichen-Rangtest, Bonferroni-korrigiert: Als Post-Hoc-Test (Folgetest) nach signifikanten Ergebnissen des Friedman-Tests wurden die abhängigen Stichproben paarweise verglichen um zu erkennen, welche der untersuchten CA-Regionen des Hirntod-Kollektivs sich signifikant voneinander unterschieden. Aufgrund des multiplen Testproblems ergab sich nach Bonferroni-Korrektur ein adjustiertes Signifikanzniveau von $\alpha=0,008=0,8\%$ (statistische Signifikanz bei $p \leq 0,008$).

U-Test nach Mann und Whitney (Wilcoxon-Rang-Summ-Test), Bonferroni-korrigiert: Bei diesem Test werden paarweise unabhängige Stichproben verglichen. Bei vorliegenden Untersuchungen diente der Test dem Vergleich der verschiedenen CA-Regionen jeweils des Hirntod- und des Kontrollkollektivs. Bonferroni-korrigiert ergaben sich für das adjustierte Signifikanzniveau Werte von $\alpha=1,2\%$. Die Ergebnisse wurden als signifikant betrachtet, wenn der p-Wert $\leq 0,012$ war.

Sämtliche statistische Berechnungen sowie Häufigkeitstabellen und graphische Abbildungen der Ergebnisse mittels Boxplots wurden mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS® 17.0 (SPSS® GmbH Software, München) angefertigt. Die Boxplots geben den Median, 1. und 3. Quartil sowie Minimum und Maximum der Werte wieder. Zur Herstellung von Balken- und Spaltendiagrammen diente das Programm Microsoft® Excel® 2008 für Mac, Version 12.1.3. Die Ergebnisse der statistischen Berechnungen werden im Anhang aufgeführt (Ahg. B und C).

3. Ergebnisse

3.1 Makroskopische Neuropathologie

3.1.1 Typische Strukturveränderungen

Bei der makroskopischen Untersuchung fiel sowohl im Verlauf der Autopsie als auch nach Formalinfixierung ein generalisiertes Hirnödem und die reduzierte Konsistenz des Gehirns auf. Das Gewebe war weich und extrem leicht verletzlich, die Farbe der Hirnoberfläche war schmutzig-grau. In der Regel bestand eine generalisierte Nivellierung des Großhirnwindungsreliefs, die Gyri waren extrem abgeplattet, die Sulci verstrichen (vgl. Abb. 3.1, 3.2 und 3.3).

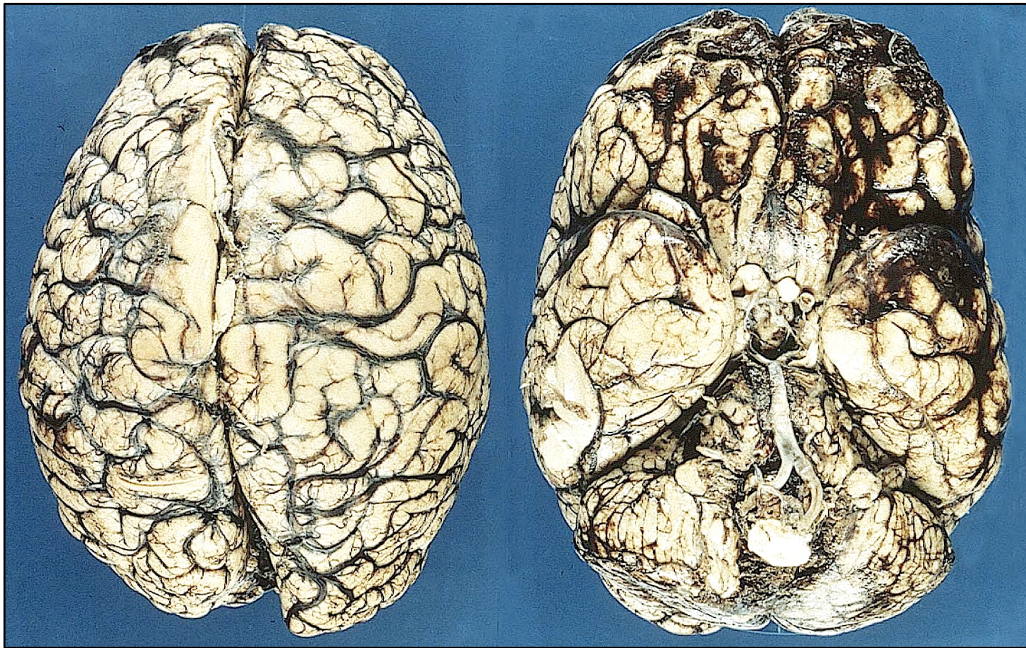


Abbildung 3.1: Hirnvolumenvermehrung durch Ödem mit makroskopisch sichtbaren Zeichen der intrakraniellen Druckerhöhung: Nivellierung des Großhirnwindungsreliefs, Druckkonus der Kleinhirntonsillen und Uncusschnürfurchen - hier nach Schädelhirntrauma mit frontobasalen kortikalen Blutungen und traumatischer Subarachnoidalblutung.

Bei der Autopsie füllte das Gehirn die Schädelkapsel meist vollständig aus und die darüber liegende Dura mater war gespannt. Da die morphologischen Strukturen durch die breiige Konsistenz bei der Schnittführung am Obduktionstisch nicht mehr differenzierbar waren, konnte die weitere Untersuchung des Gehirns nur nach Formalinfixierung stattfinden. Doch auch nach Fixierung wurde die übliche „Härtung“ häufig nicht erreicht, das Gewebe war bröckelig und sehr fragil. Trotz unscharfer, verwaschener Zeichnung ließen sich die

verschiedenen Hirnstrukturen abgrenzen. Das Ventrikelsystem war in der Regel extrem eingeeignet (vgl. Abb. 3.2)

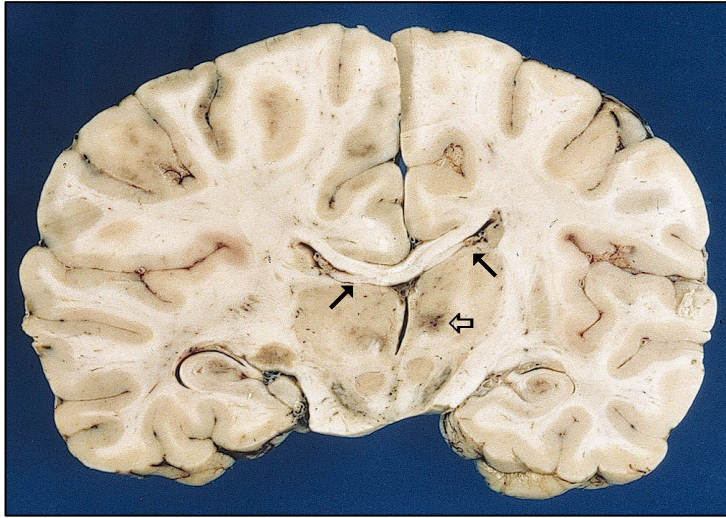


Abbildung 3.2: Frontalschnitt durch das Großhirn mit subkortikalen Kernen und Zwischenhirn. Unscharfe, verwaschene Zeichnung der Hirnstrukturen und extreme Einengung der Seitenkammern (Pfeile ↖). Starke Kongestion der Gefäße, die segmentartig in der Rinde sowie lokalisiert im medialen Thalamuskern rechts (breiter Pfeil ⇐) sichtbar werden.

Morphologisch sichtbare Folgen der intrakraniellen Druckerhöhung waren außerdem eine transtentorielle Massenverschiebung durch die Incisura cerebelli in die hintere Schädelgrube (Uncusschnürfurchen, vgl. Abb. 3.1 und 3.3), eine Verschiebung von Mittellinienstrukturen zur Gegenseite (bei unilateraler Pathogenese) sowie eine Verlagerung der Kleinhirntonsillen in den Spinalkanal (Kleinhirndruckkonus, vgl. Abb. 3.1 und Abb. 3.4). Nekrotisches Kleinhirngewebe konnte häufig innerhalb des Spinalkanals - auch in kaudalen Abschnitten - aufgefunden werden (vgl. Abb. 3.5).

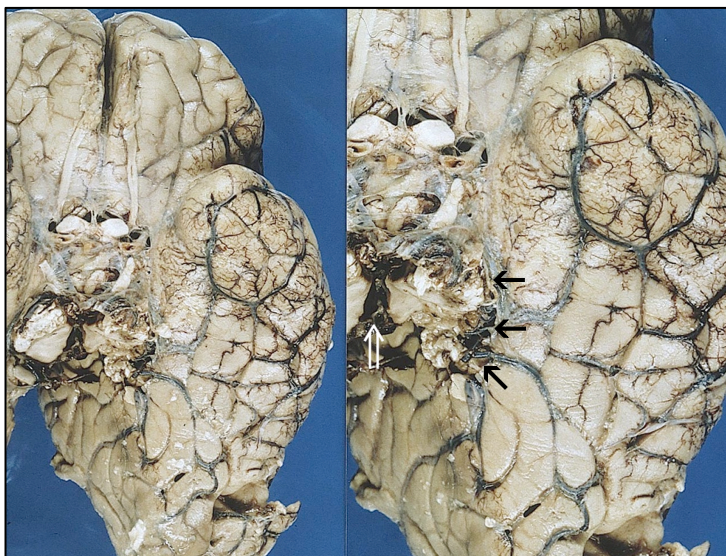


Abbildung 3.3: Herniation des medialen Temporallappens (Uncus und Gyrus parahippocampalis) mit Bildung einer Uncusschnürfurche (Pfeile ←). Brückenblutung als Folge eines ischämisch-induzierten Hirnödems (weißer Doppelpfeil ⇐).

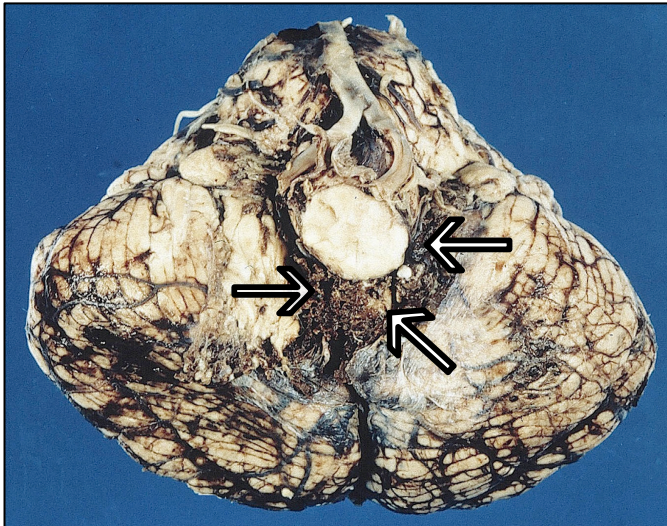


Abbildung 3.4:
Herniation der Kleinhirntonsillen durch das Foramen occipitale magnum in den Spinalkanal. Deutlich sichtbarer Druckkonus der Tonsillen mit hämorrhagischer Nekrose (Pfeile).

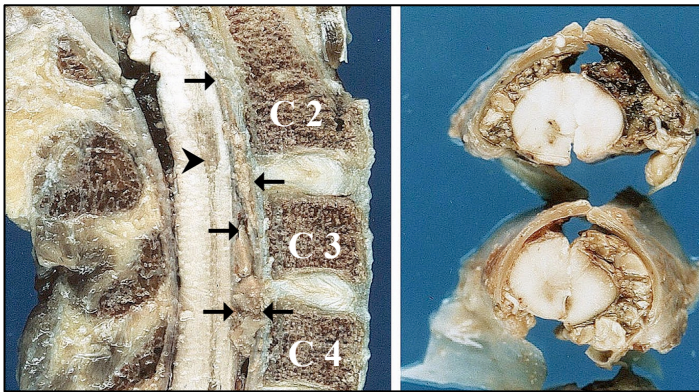


Abbildung 3.5:
Nekrotisches und in den Subarachnoidalraum des oberen Halsmarks abgetropftes Kleinhirngewebe (Pfeile →). Hämorrhagische Nekrose der oberen Zervikal-segmente innerhalb der Grenzregion zwischen intra- und extrakranieller Blutversorgung (Pfeilspitze ►).

Herdförmige Veränderungen in Form von Blutungen fanden sich, falls nicht durch Krankheit oder Trauma vorgegeben, als Zeichen des erhöhten Hirndrucks in der Hippokampusformation, den Kleinhirntonsillen, der Brücke (vgl. Abb. 3.3 und 3.6) sowie in einigen Fällen im Okzipitallappen in Form eines hämorrhagischen Infarkts.

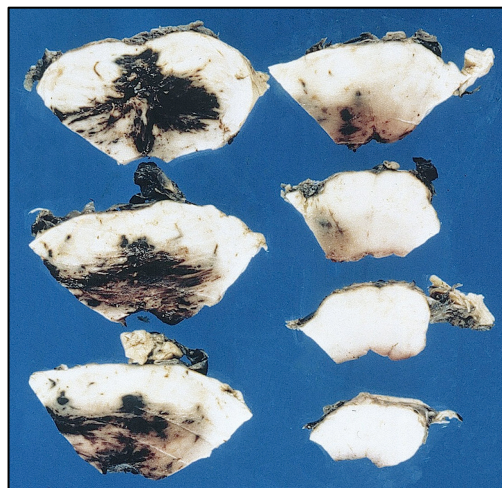


Abbildung 3.6:
Blutung innerhalb der Brücke als Folge einer traumatisch-bedingten Hirnvolumenvermehrung.

3.1.2 Hirngewicht

Die dokumentierten nativen Hirngewichte des Gesamtkollektivs (Ahg. A.3) lagen im Bereich zwischen 480 und 2290g (n=98, Mittelwert: 1496,5g), die Gewichte der formalinfixierten Gehirne lagen im Bereich zwischen 490 und 2030g (n=149, Mittelwert: 1432,9g).

Da das Hirngewicht des Menschen von seinem Geschlecht und dem Lebensalter abhängig ist, wurden per Literaturrecherche Vergleichskollektive herangezogen, die das jeweilige physiologische Hirngewicht angeben. Folgend werden drei Untersuchungen den Auswertungen des Hirntod-Kollektivs gegenübergestellt, wobei die Klassifizierung des Fallmaterials jeweils nach den Kriterien der verschiedenen Vergleichskollektive erfolgte.

Spann und Dustmann (1965) untersuchten das physiologische Hirngewicht des Menschen anhand eines rechtsmedizinischen Obduktionsmaterials in etwa 1600 Fällen (*Vergleichskollektiv I*). Ihre Ergebnisse wurden nach drei verschiedenen Altersklassen und dem Geschlecht klassifiziert und vorliegend in tabellarischer und graphischer Form den nativen Hirngewichten des Hirntod-Kollektivs gegenübergestellt (siehe Tab. 3.1 und Abb. 3.7).

Geschlecht	Alter (Jahre)	Vergleichskollektiv I (n=1600), Angaben in g	Hirntod-Kollektiv (n=90), Angaben in g
männlich	15-45	1448	1594 (n=43)
	45-65	1412	1519 (n=22)
	65-94	1358	1353 (n=6)
weiblich	15-45	1325	1423 (n=9)
	45-65	1277	1392 (n=8)
	65-94	1211	1350 (n=2)

Tabelle 3.1: Native Hirngewichte des Hirntod-Kollektivs wurden dem Vergleichskollektiv I gegenübergestellt (Spann u. Dustmann 1965). Das Fallmaterial wurde nach Geschlecht und Alter (je drei Gruppen) klassifiziert. Angaben in Gramm (g).

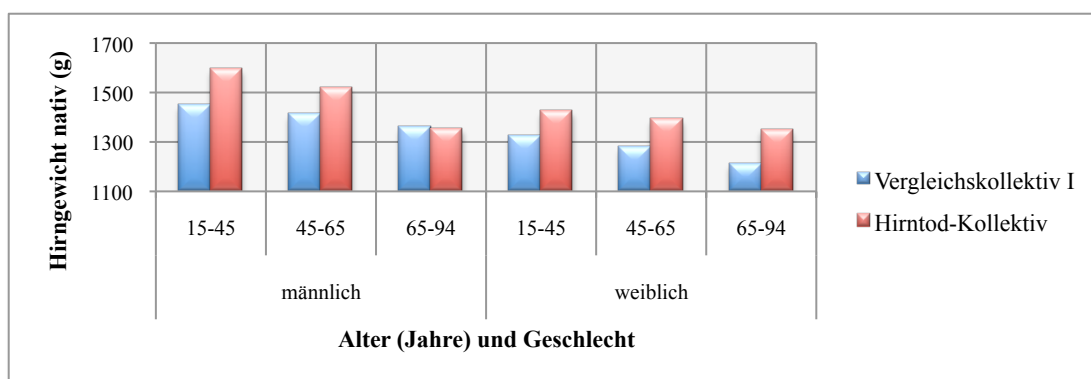


Abbildung 3.7: Mittleres (natives) Hirngewicht des Hirntod-Kollektivs (rot) und des Vergleichskollektivs I (blau) nach Spann und Dustmann (1965), getrennt nach Alter und Geschlecht. Angaben in Gramm (g).

Die Gegenüberstellung der Hirngewichte des weiblichen Geschlechts zeigte in jeder Altersklasse deutlich höhere Messwerte innerhalb des Hirntod-Kollektivs, die mit 98-139g eindeutig über den Normgewichten des Vergleichskollektivs I lagen. Das männliche Gehirn war in den Altersklassen bis zum 65. Lebensjahr ebenso schwerer in Fällen eines Hirntodes (107-146g). Ausschließlich in der Altersklasse von *65-94 Jahren* lag das mittlere Hirngewicht des Hirntod-Kollektivs mit 5g unter dem der Vergleichsgruppe, möglicherweise bedingt durch eine Altersatrophie, wobei die Fallzahl (n=6) hier sehr gering war. Das durchschnittliche Hirngewicht der in Formalin fixierten Gehirne war in dieser Altersklasse mit 1366g gegenüber dem Vergleichskollektiv I erhöht (n=9).

Bei der Gegenüberstellung des Hirntod-Kollektivs zu den Normalwerten menschlicher Hirngewichte nach Sundermann und Boerner (1949) wurde eine Alterklassifizierung in Lebensdekaden vorgenommen. Trotz geringer Fallzahlen der nativen Hirngewichte des Hirntodkollektivs konnte ein gegenüber dem *Vergleichskollektiv II* deutlich erhöhtes Hirngewicht (73-350g) in sämtlichen Lebensdekaden nachgewiesen werden (siehe Tab. 3.2 und Abb. 3.8).

Alter (Jahre)	Vergleichskollektiv II Männlich, Angaben in g	Hirntod-Kollektiv Männlich (n=68), Angaben in g	Vergleichskollektiv II Weiblich, Angaben in g	Hirntod-Kollektiv Weiblich (n=19), Angaben in g
17 -19	1340	1690 (n=4)	1242	1430 (n=2)
20 -29	1396	1597 (n=15)	1234	1510 (n=2)
30 - 39	1365	1615 (n=15)	1233	1420 (n=3)
40 - 49	1366	1538 (n=8)	1240	1382 (n=4)
50 - 59	1375	1526 (n=14)	1200	1453 (n=5)
60 - 69	1323	1475 (n=6)	1178	1260 (n=2)
70 - 85	1279	1352 (n=6)	1121	1350 (n=1)

Tabelle 3.2: Native Hirngewichte des Hirntod-Kollektivs wurden dem Vergleichskollektiv II gegenübergestellt (Sundermann u. Boerner 1949), die ihr Fallmaterial nach Geschlecht und Alter (in Dekaden) klassifizierten. Angaben in Gramm (g).

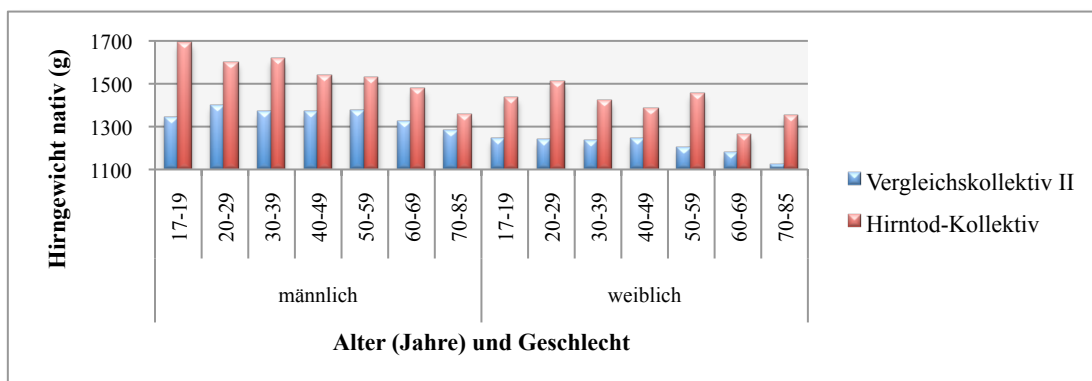


Abbildung 3.8: Mittleres (natives) Hirngewicht des Hirntod-Kollektivs (rot) und des Vergleichskollektivs II (blau) nach Sundermann und Boerner (1949), getrennt nach Alter und Geschlecht. Angaben in Gramm (g).

Den Angaben von *Boyd (1962)* über das Hirngewicht in jüngerem Lebensalter (**Vergleichskollektiv III**) wurden die nativen Hirngewichte des Hirntod-Kollektivs ebenfalls in tabellarischer und graphischer Form gegenübergestellt (siehe Tab. 3.3 und Abb. 3.9).

Geschlecht	Alter (Jahre)	Vergleichskollektiv III Angaben in g	Hirntod-Kollektiv Angaben in g
männlich	10-20	1393,8	1609 (n=11)
weiblich	10-20	1275,4	1434 (n=5)
	11-15	1269,4	1434 (n=5)

Tabelle 3.3: Native Hirngewichte des Hirntod-Kollektivs wurden dem Vergleichskollektiv III gegenübergestellt (Boyd 1962), deren Fallmaterial das Hirngewicht in jüngeren Lebensjahren repräsentiert. Angaben in Gramm (g).

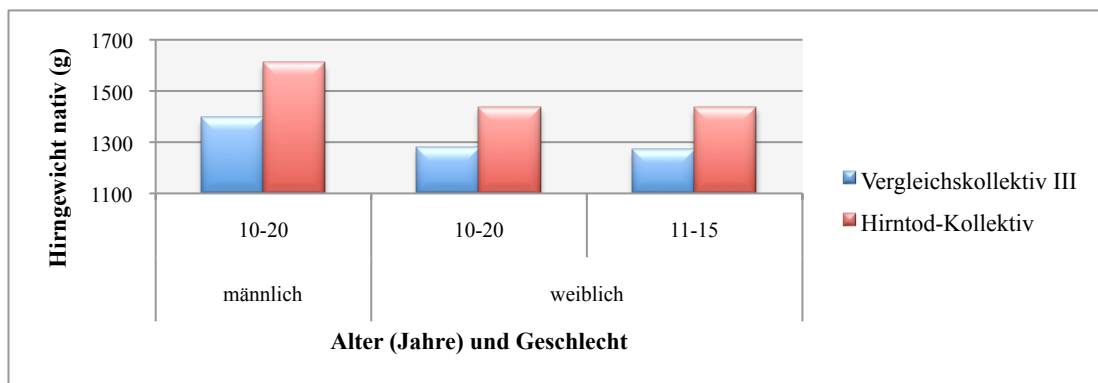


Abbildung 3.9: Mittleres (natives) Hirngewicht des Hirntod-Kollektivs (rot) und des Vergleichskollektivs III (blau) nach Boyd (1962), getrennt nach Alter und Geschlecht.

In dieser Gegenüberstellung lagen die Hirngewichte des Hirntod-Kollektivs mit 164,6g bis 215,2g weit über denen des Vergleichskollektivs III. Da unter den Fällen weiblichen Geschlechts in der Altersklasse *10-20 Jahre* nur Fälle zwischen dem 11. und 15. Lebensjahr zur Verfügung standen, wurde dort zusätzlich das mittlere Hirngewicht exakt ermittelt. Auch die Durchschnittswerte der formalinfixierten Hirne lagen stets über denen der Vergleichsgruppe III.

3.1.3 Intrakranieller Hirndruck

Veränderungen des Gehirns (n=149): Eine *Abflachung der Hirnwindungen* sowie ein *Druckkonus der Kleinhirntonsillen* wurde in sämtlichen Fällen (n=149) festgestellt, *Schnürfurchen im Bereich der Unci* lagen in nur einem Fall nicht vor und eine *Nekrose der Kleinhirntonsillen* konnte in 75,8% der 149 Fälle nachgewiesen werden. *Druckbedingte Blutungen und/oder eine Nekrose der Brücke* waren in 71,4% vorhanden. Eine *Verlagerung der Mittellinie* fand sich in 47,7%, ein *hämorrhagischer Infarkt des Okzipitallappens* in 15,6% der Fälle.

Das Halsmark (n=90): Abgetropftes *nekrotisches Kleinhirngewebe*, i.e. die makroskopisch sichtbare Ummantelung des Halsmarks durch nekrotisches Kleinhirngewebe, konnte in 75,6% der Fälle dokumentiert werden. *Blutungen und/oder Nekrosen* innerhalb des Parenchyms waren in 53,4% vorhanden, *epidurale* (EDB), *subdurale* (SDB) oder *subarachnoidale* (SAB) *Blutungen* wurden in 45,3% der Fälle beobachtet.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden tabellarisch zusammengefasst (Tab. 3.4) und anschaulich in einer Graphik dargelegt (Abb. 3.10).

Die grundlegenden fallspezifischen Auswertungen können der Tabelle A.3 (Gesamtkollektiv: Makroskopie) des Anhangs entnommen werden.

Makroskopische Befunde		Anzahl der Fälle (gesamt)	Anzahl der Fälle (positiver Befund)	Häufigkeiten in % (positiver Befund)
Gehirn	Abflachung der Hirnwindungen	149	149	100
	Kleinhirndruckkonus	149	149	100
	Uncusschnürfurche	149	148	99,3
	Tonsillennekrose	149	113	75,8
	Brückenblutung/ -nekrose	147	105	71,4
	Mittellinienverlagerung	149	71	47,7
	Hämorrhag. Infarkt okzipital	141	22	15,6
Halsmark	Kleinhirnektomie	90	68	75,6
	Markblutung/ -nekrose	88	47	53,4
	EDB, SDB, SAB	86	39	45,3

Tabelle 3.4: Häufigkeiten makroskopischer Befunde innerhalb des Gesamtkollektivs (EDB= Epidurale Blutung, SDB= Subdurale Blutung, SAB= Subarachnoidale Blutung).

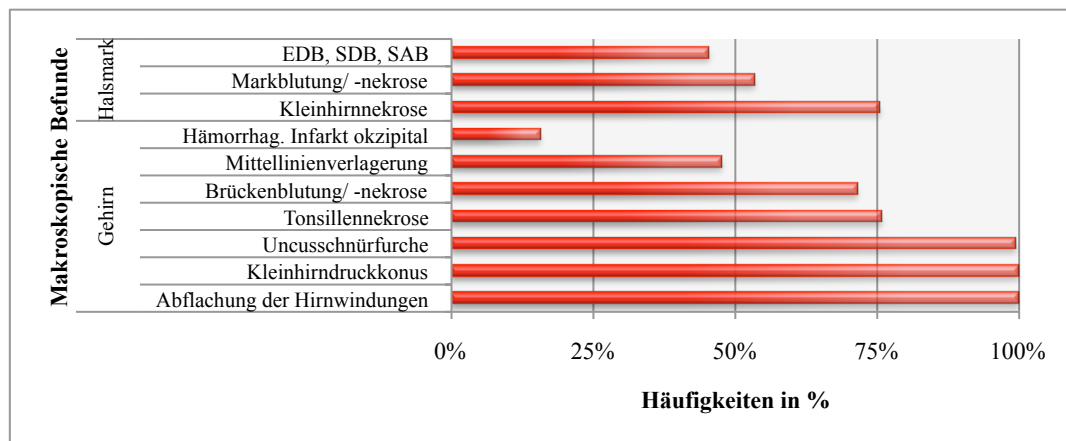


Abbildung 3.10: Prozentuale Häufigkeiten makroskopischer Befunde innerhalb des Gesamtkollektivs (EDB= Epidurale Blutung, SDB= Subdurale Blutung, SAB= Subarachnoidale Blutung).

3.1.4 Korrelation: Makroskopische Befunde und Diagnosegruppen

Nach Klassifizierung des Gesamtkollektivs in verschiedene Diagnosegruppen (Dg) (I= Intrakranielle Blutungen und Traumata [n=103], II= Globale Hirnischämie [n=38],

III= Intoxikation [n=8]; vgl. Kap. 2.1) verteilen sich die makroskopischen Befunde wie aus Tabelle 3.5 ersichtlich.

Makroskopische Befunde, klassifiziert nach Diagnosegruppen		Anzahl der Fälle (gesamt)			Anzahl der Fälle (positiver Befund)			Häufigkeiten in % (positiver Befund)		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
Gehirn	Abflachung der Hirnwindungen	103	38	8	103	38	8	100	100	100
	Kleinhirndruckkonus	103	38	8	103	38	8	100	100	100
	Uncusschnürfurche	103	38	8	102	38	8	99	100	100
	Tonsillennekrose	103	38	8	75	32	6	72,8	84,2	75
	Brückenblutung/ -nekrose	101	38	8	76	22	7	75,2	57,9	87,5
	Mittellinienverlagerung	103	38	8	68	3	0	66	7,9	0
	Hämorrhag. Infarkt okzipital	97	36	8	12	8	2	12,4	22,2	25
Halsmark	Kleinhirnnnekrose	70	14	6	53	10	5	75,7	71,4	83,3
	Markblutung/ -nekrose	69	13	6	35	9	3	50,7	69,2	50
	EDB, SDB, SAB	69	11	6	33	4	2	47,8	36,4	33,3

Tabelle 3.5: Häufigkeiten makroskopischer Befunde, klassifiziert nach Diagnosegruppen (I= Intrakranielle Blutungen, II= Globale Hirnischämie, III= Intoxikation, EDB= Epidurale Blutung, SDB= Subdurale Blutung, SAB= Subarachnoidale Blutung).

Eine *Abflachung der Hirnwindungen*, ein *Kleinhirndruckkonus* und *Uncusschnürfurchen* waren unabhängig von der Diagnosegruppe (Dg) in nahezu 100% der Fälle vorhanden. *Nekrotisierte Tonsillen* sowie abgetropftes Kleinhirngewebe in den Halswirbelkanal (*Kleinhirnnnekrose*) fanden sich in 70-85%, wobei die höheren Werte in der Dg II bzw. III festgestellt werden konnten. *Blutungen und/oder eine Nekrose im Bereich der Brücke* waren in 58% der Dg II, 75% der Dg I und 88% der Dg III vorhanden.

Eine *Verlagerung der Mittellinie* des Gehirns war bei intrakranieller Blutung (Dg I) in 66% der Fälle zu beobachten, im Gegensatz zu 8 bzw. 0% in den Dg II und III (vgl. Abb. 3.11). Die Häufigkeit eines *hämorrhagischen Infarkts innerhalb des Okzipitallappens* war in der Dg I (12%) geringer als in den Gruppen II und III (22-25%). Eine *Blutung und/oder eine Nekrose innerhalb des Halsmarks* konnte den Diagnosegruppen I und III in 50% der Fälle - im Gegensatz zur Gruppe II (70%) - zugeschrieben werden. Auffällig war ferner das häufige Auftreten von *Epidural-, Subdural- und Subarachnoidalblutungen* im HWS-Bereich der Diagnosegruppe I (48% in Dg I vs. 35% in Dg II und III). Eine graphische Übersicht wird in Abbildung 3.11 dargelegt.

Unter Anwendung des Exakten Fisher-Tests wurden die makroskopischen Befunde der verschiedenen Diagnosegruppen auf Unterschiede geprüft, wobei diese Gegenüberstellung größtenteils keine Signifikanz aufzeigen konnte (vgl. Anhang C.1). Lediglich das Vorkommen einer *Mittellinienverlagerung* wies im Vergleich der verschiedenen

Zugehörigkeiten der Fälle zu bestimmten Diagnosegruppen eine hohe Signifikanz auf ($p=0,000$). Abhängig von dem zur Hirntodsymptomatik führenden ursächlichen Ereignis konnte somit auf ein signifikant unterschiedlich häufiges Auftreten geschlossen werden (vgl. Abb. 3.11): In 95,7% aller Fälle mit dem Befund einer Verlagerung der Mittellinie war anamnestisch eine primär traumatische Hirnschädigung vorhanden (DgI). Eine Assoziation der Diagnosegruppen gegenüber einer *Blutung/Nekrose der Brücke* ergab einen p -Wert $\leq 0,077$.

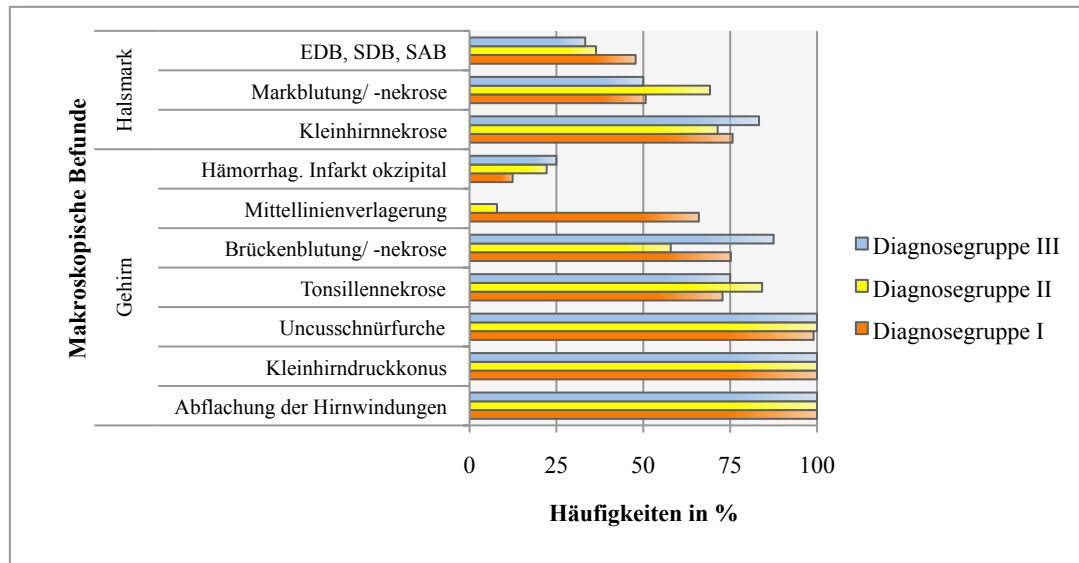


Abbildung 3.11: Prozentuale Häufigkeiten makroskopischer Befunde, klassifiziert nach Diagnosegruppen (I= Intrakranielle Blutungen [orange], II= Globale Hirnschämie [gelb], III= Intoxikation [blau], EDB= Epidurale Blutung, SDB= Subdurale Blutung, SAB= Subarachnoidale Blutung).

3.1.5 Korrelation: Makroskopische Befunde, Altersklassen und Geschlecht

Zur Ansicht der absoluten Häufigkeiten nach Klassifizierung des Fallmaterials in verschiedene Altersklassen (vgl. Tab. 2.1) darf auf eine tabellarische Darstellung im Anhang verwiesen werden (Anh. B.1). Eine zugrunde liegende Fallzahl ≤ 5 wurde in nachstehend eingefügter Tabelle 3.6 durch Klammerung markiert. Das Auftreten einer *Abflachung der Hirnwindungen*, eines *Kleinhirndruckkonus* sowie von *Uncusschnürfurchen* war unabhängig vom Geschlecht und von der Einteilung des Fallmaterials in verschiedene Altersklassen in nahezu 100% der Fälle vorhanden. Eine *Verlagerung der Mittellinie* des Gehirns kam mit zunehmendem Alter und bei maskulinem Geschlecht häufiger vor. Das Auftreten eines *hämorrhagischen Infarkts des Okzipitallappens* ließ eine deutliche Zunahme ab dem 60. Lebensjahr erkennen, *Blutungen und/oder eine Nekrose der Brücke* wurden ab dem 40. Lebensjahr konstant bei 80%, in jüngeren Jahren bei 45-70% festgestellt.

Relativ konstant waren das Auftreten einer *Nekrose der Kleinhirntonsillen* sowie das Vorhandensein von *abgetropftem Kleinhirngewebe in den Halswirbelkanal* mit Häufigkeitsmaxima in jüngeren (bis 30) Jahren. Weitere Befunde der Halswirbelsäule konnten als altersunabhängig bewertet werden.

Bei Betrachtung geschlechtsspezifischer Unterschiede (Tab. 3.7 und Abb. 3.12) konnte unter männlichem Geschlecht neben der Diagnose einer *Mittellinienverlagerung* (54 vs. 33%) häufiger der Befund einer *Nekrose und/oder einer Blutung innerhalb der Brücke* festgestellt werden. Andere makroskopische Befunde zeigten nur sehr geringe Unterschiede im geschlechtsspezifischen Vergleich.

Makroskopische Befunde klassifiziert nach Altersklassen (Jahre)		Häufigkeiten in % (positiver Befund)							
		0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	60-70	70-80
Gehirn	Abflachung der Hirnwindungen	100	100	100	100	100	100	100	100
	Kleinhirndruckkonus	100	100	100	100	100	100	100	100
	Uncusschnürfurche	100	95	100	100	100	100	100	100
	Tonsillennekrose	91,7	70	81	64	72,7	19,7	75	72,7
	Brückenblutung/ -nekrose	72,7	45	61,9	70,8	81,8	80,8	83,3	81,8
	Mittellinienverlagerung	8,3	40	33,3	48	54,5	53,8	83,3	63,6
	Hämorrhag. Infarkt okzipital	36,4	5,3	10	4,2	27,3	12,5	81,8	70
Halsmark	Kleinhirnnnekrose	100	83,3	81,3	64,7	55,6	84,2	77,8	(33,3)
	Markblutung/ -nekrose	(50)	58,3	46,7	58,8	55,6	57,9	55,6	(0)
	EDB, SDB, SAB	(75)	54,5	50	40	33,3	42,1	44,4	(50)

Tabelle 3.6: Prozentuale Häufigkeiten makroskopischer Befunde, klassifiziert nach Lebensdekaden. Die Klammerung einiger Befunde markiert geringe Fallzahlen (EDB= Epidurale Blutung, SDB= Subdurale Blutung, SAB= Subarachnoidale Blutung). Eine zugrunde liegende Fallzahl ≤ 5 wurde durch Klammerung markiert.

Makroskopische Befunde klassifiziert nach dem Geschlecht		Anzahl der Fälle (gesamt)		Anzahl der Fälle (positiver Befund)		Häufigkeiten in % (positiver Befund)	
		m	w	m	w	m	w
Gehirn	Abflachung der Hirnwindungen	106	43	106	43	100	100
	Kleinhirndruckkonus	106	43	106	43	100	100
	Uncusschnürfurche	106	43	105	43	99,1	100
	Tonsillennekrose	106	43	79	34	74,5	79,1
	Brückenblutung/ -nekrose	104	43	83	22	79,8	51,2
	Mittellinienverlagerung	106	43	57	14	53,8	32,6
	Hämorrhag. Infarkt okzipital	100	41	18	4	18	9,8
Halsmark	Kleinhirnnnekrose	65	25	49	19	75,4	76
	Markblutung/ -nekrose	63	25	32	15	50,8	60
	EDB, SDB, SAB	60	26	28	11	46,7	42,3

Tabelle 3.7: Häufigkeiten makroskopischer Befunde, klassifiziert nach dem Geschlecht (EDB= Epidurale Blutung, SDB= Subdurale Blutung, SAB= Subarachnoidale Blutung).

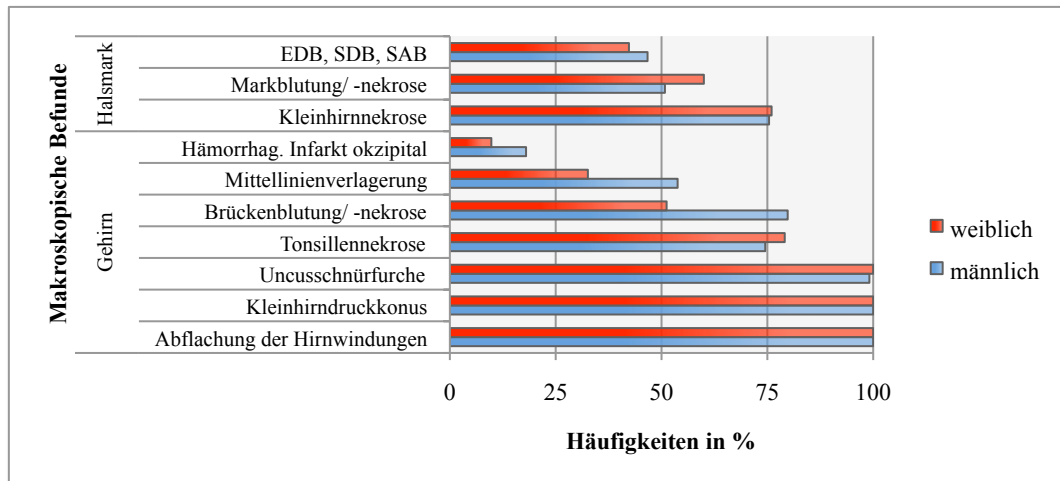


Abbildung 3.12: Prozentuale Häufigkeiten makroskopischer Befunde, klassifiziert nach dem Geschlecht (EDB= Epidurale Blutung, SDB= Subdurale Blutung, SAB= Subarachnoidale Blutung).

Unter Anwendung des Exakten Fisher-Tests konnte eine signifikante Assoziation des Auftretens einer *Mittellinienverlagerung* innerhalb bestimmter Altersklassen aufgezeigt werden ($p=0,01$). Der p-Wert des Auftretens eines *hämorrhagischen Infarkts* innerhalb der Altersklassen lag bei 0,08 (vgl. Ahg. C.2).

Signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern konnten per Fisher-Test ebenfalls in Fällen einer *Verlagerung der Mittellinie* ($p=0,015$) sowie bei einer *Nekrose/Blutung der Brücke* ($p=0,001$) festgestellt werden (vgl. Ahg. C.3) - Männer waren häufiger betroffen.

3.2 Mikroskopische Untersuchungen:

Histologische Ergebnisse der NAS-DCIAE und CD68- Darstellung

3.2.1 Typische Strukturveränderungen

In vielen Fällen erschienen weiße und graue Hirnabschnitte homogen und farblos, wie ausgewaschen: Nur vereinzelt wurden Gliazellkerne erkennbar, die Markscheiden waren schwer abgrenzbar, das gesamte Parenchym zeigte sich ödematös. Die Gefäße im Hirnparenchym waren zum Teil kollabiert, im Subarachnoidalraum (SAR) konnten sie mit Blutgerinnseln prall gefüllt sein. Häufig fanden sich regional abgegrenzte, sowohl ischämische als auch hämorrhagische Infarkte. Die Zahl der sichtbaren Neurone war häufig reduziert, jedoch waren Nervenzellen in der Regel noch erkennbar, teils ischämisch geschädigt und nur noch schattenhaft vorhanden, manchmal geschrumpft. Nach Färbung mit Hämatoxylin und Eosin (HE) erschien ihr Zytoplasma eosinophil, die Zellkerne konnten

dunkel und pyknotisch verändert sein. Falls Nervenzellausfälle vorhanden waren, fanden sich diese über das gesamte Gehirn verteilt - ein Vulnerabilitätsmuster konnte grob mikroskopisch nicht erkannt werden. Reaktive Blutzellen waren im Parenchym in der Regel nicht nachweisbar - es sei denn eine Hirnblutung wurde längere Zeit bei noch intaktem Hirnkreislauf überlebt. Allerdings fanden sich neutrophile Granulozyten und Makrophagen in den Demarkationszonen von Halsmark (Abb. 3.13-15), Hypophyse (Abb. 3.16) und N. opticus (Abb. 3.17) - jeweils dort, wo das vom Blutkreislauf getrennte Gehirn an das vitale und durchblutete Gewebe des übrigen Körpers grenzt. Diese reaktiven Zellen wurden fotografisch dokumentiert. Neben den Entzündungsreaktionen innerhalb der Grenzzonen konnte häufig nekrotisches Kleinhirngewebe im SAR nachgewiesen werden (vgl. Abb. 3.18).

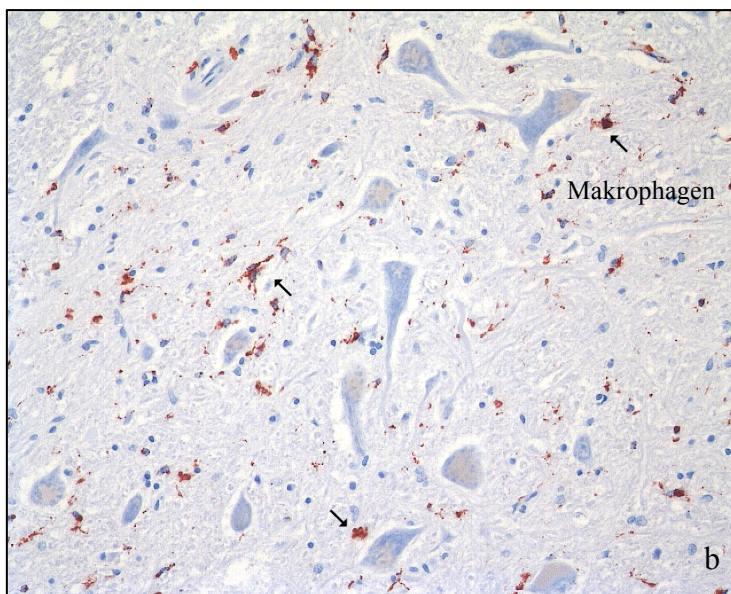
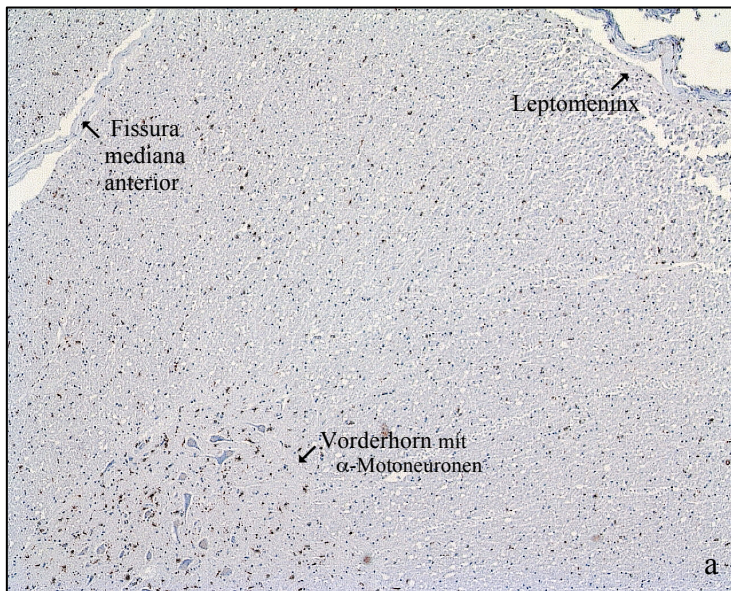


Abbildung 3.13:

Fotografische Darstellung einer fortgeschrittenen Invasion von Makrophagen innerhalb des Zervikalmarks mittels CD68-Immunreaktivität.

Das Zeitintervall von primärer Hirnschädigung (Trauma) bis zur Diagnostik des Hirntodes (A-B) war in diesem Fall vergleichsweise lang (225 Stunden).

Fallnummer 132 (S 33 /94).

- a) Übersicht,
Vergrößerung 100x
- b) Ausschnitt aus dem
Vorderhorn,
Vergrößerung 500x

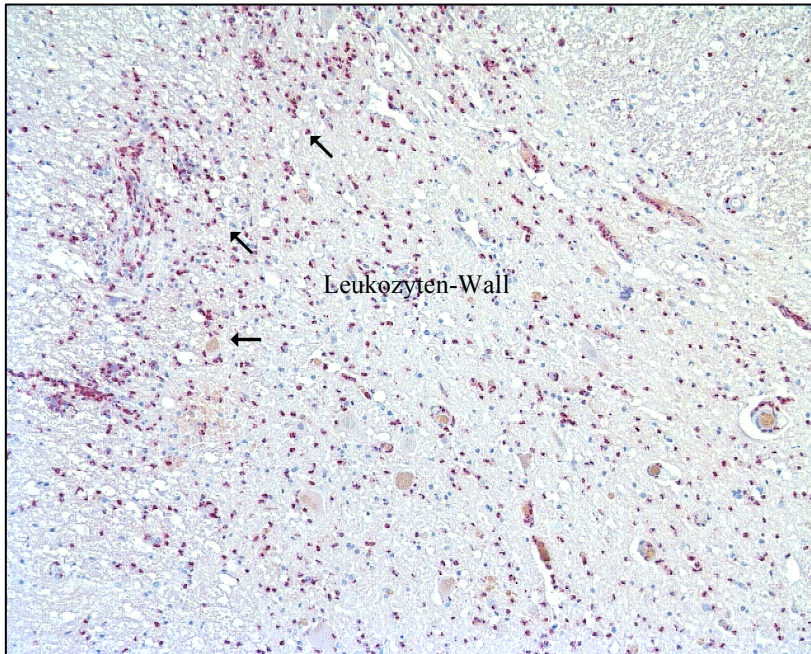


Abbildung 3.14:
Fotografische Darstellung einer Demarkation durch neutrophile Granulozyten innerhalb des Zervikalmarks mittels NAS-DCIAE-Enzymreaktivität.

Das Zeitintervall von primärer Hirnschädigung (Trauma) bis zur Diagnostik des Hirntodes (A-B) war in diesem Fall vergleichsweise lang (92 Stunden).

Fallnummer 92 (S 55 /97).
Vergrößerung 300x.

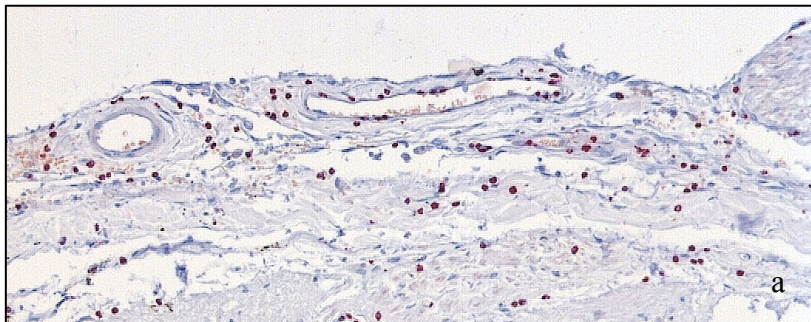
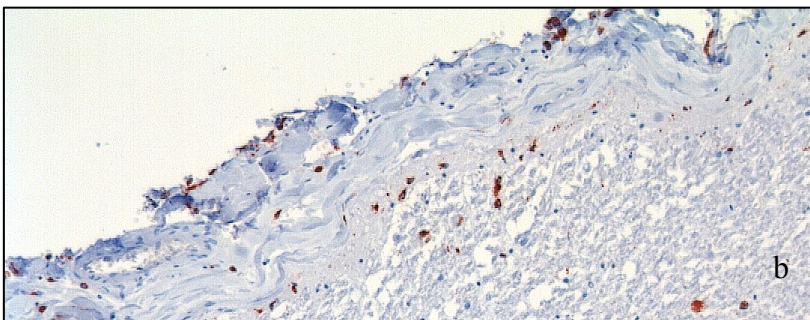


Abbildung 3.15:
Emigration reaktiver Zellen in den Subarachnoidalraum des Halsmarks.

Vergrößerung 400x.

a) Fotografische Darstellung von neutrophilen Granulozyten mittels NAS-DCIAE-Enzymaktivität.
Fallnummer 92 (S 55 /97)



b) Fotografische Darstellung von Makrophagen mittels CD68-Immunreaktivität.
Fallnummer 132 (S 33 /94)

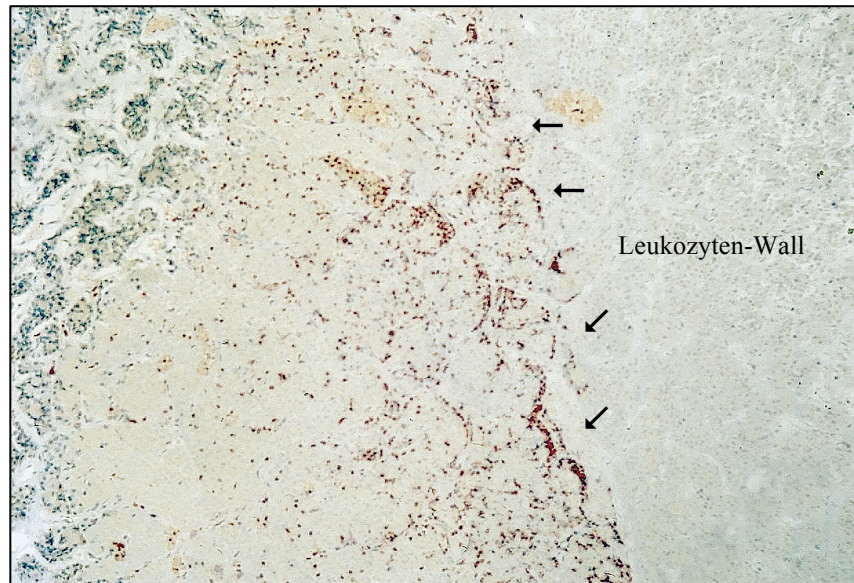


Abbildung 3.16: Fotografische Darstellung einer Demarkation durch neutrophile Granulozyten innerhalb der Hypophyse mittels NAS-DCIAE-Enzymreaktivität. Vergrößerung 300x.

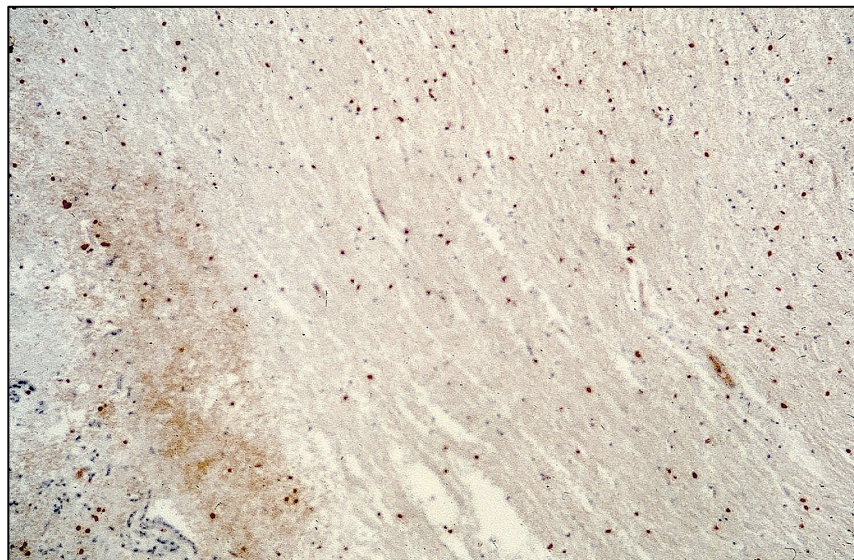


Abbildung 3.17: Fotografische Darstellung einer Demarkation durch neutrophile Granulozyten innerhalb des N. opticus mittels NAS-DCIAE-Enzymreaktivität. Vergrößerung 300x.

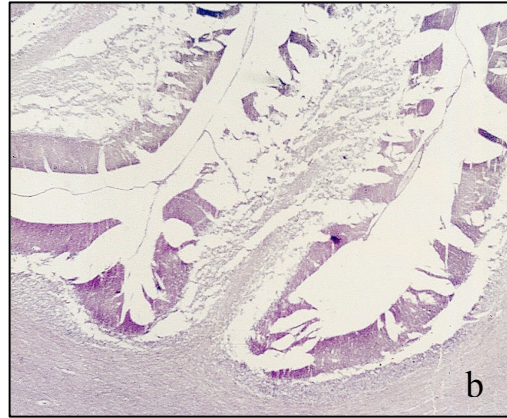
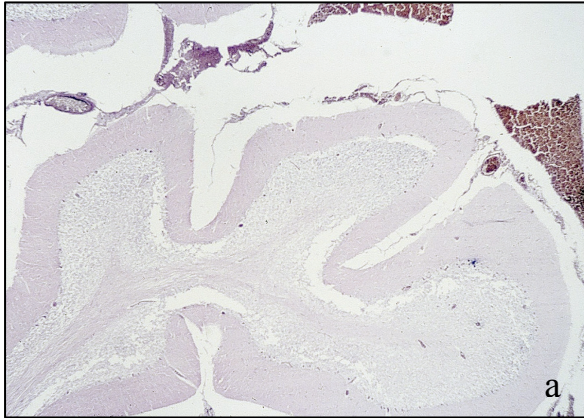


Abbildung 3.18:
Kleinhirn-Nekrose
und Autolyse (a, b, c)
mit Subarachnoidalblutung (a)
und Strukturzerfall (b, c).

Ein Querschnitt durch das obere
Halsmark (c) zeigt abgetropftes
Kleinhirngewebe im subarach-
noidalen und subduralen
Spaltraum.

HE-Färbung, Vergrößerung 5x.

3.2.2 Veränderungen in den Demarkationszonen

Die Anzahl positiver mikroskopischer Befunde wurde in tabellarischer und graphischer Form wiedergegeben (Tab. 3.8 und Abb. 3.19). Die spezifischen Auswertungen der einzelnen Fälle werden im Anhang aufgeführt (Ahg. A.4).

Mikroskopische Befunde		Anzahl der untersuchten Fälle (gesamt)	Anzahl der Fälle (positiver Befund)	Häufigkeiten in % (positiver Befund)
Halsmark	SAR: Kleinhirn-Nekrose	49	39	79,6
	SAR: Leukozyten	49	45	91,8
	SAR: Makrophagen	23	15	65,2
	Pa: Blutung oder Nekrose	49	29	59,2
	Pa: Leukozyten	48	29	60,4
	Pa: Makrophagen	44	19	43,2
Hypophyse	Blutung	19	14	73,7
	Nekrose	19	19	100
	Leukozyten	19	18	94,7
	Makrophagen	16	5	31,3
N. opticus	SAR: Leukozyten	20	20	100
	Pa: Leukozyten	20	16	80
	Pa: Blutung, Nekrose	20	15	75

Tabelle 3.8: Häufigkeiten mikroskopischer Befunde, nicht klassifiziert (SAR= Subarachnoidaler Raum, Pa= im Parenchym, KH= Kleinhirn).

Das Halsmark

Das Auftreten von *abgetropftem Kleinhirngewebe* (SAR: *Kleinhirn-Nekrose*) im Subarachnoidal- (und Subdural-) raum (ca. 80%) sowie das Vorkommen einer *parenchymalen Blutung und/oder Nekrose* (ca. 60%) entspricht in etwa den makroskopischen Befunden (76 vs. 80% bzw. 53 vs. 60%). Somit konnten durch die mikroskopische Diagnostik noch vier bis sieben Fälle zusätzlich erfasst werden, die sich der Makroskopie entzogen.

Subarachnoidal war das Vorkommen von *neutrophilen Granulozyten* (Leukozyten) in über 90%, das Auftreten von *Makrophagen* in 65% nachweisbar (Verhältnis 1,4:1). Eine reaktive Einwanderung der Zellen in das Parenchym erfolgte durch *Neutrophile* in 60%, durch *Makrophagen* in 43% der Fälle (Verhältnis Leukozyten:Makrophagen = 1,4:1).

Durch eine explizite Analyse der Einzelfälle konnte festgestellt werden, dass bei Vorkommen von mikroskopisch sichtbarem nekrotischem Kleinhirngewebe im Halswirbelkanal immer auch eine Einwanderung von Leukozyten in den Subarachnoidalraum (SAR) stattgefunden hatte (n=39). Makrophagen konnten nur in 2/3 der Fälle nachgewiesen werden (n_{positiv}=12). In Fällen, in denen mikroskopisch keine „Kleinhirn-Abtropfung“ bestätigt werden konnte (n=9),

wurden dennoch in etwa der Hälfte der Fälle Leukozyten im SAR festgestellt ($n_{\text{positiv}}=5$, $n_{\text{negativ}}=4$). Auch Makrophagen konnten hier vereinzelt angetroffen werden.

In den wenigen Fällen, in denen keine Emigration von Neutrophilen in den SAR stattgefunden hatte ($n=4$), wurden auch keine anderen pathologischen Veränderungen des Halsmarks (Blutungen, Nekrosen) diagnostiziert. Konnten Leukozyten im SAR festgestellt werden, so waren sie in 64% der Fälle auch parenchymal anzutreffen. In 9 von 19 Fällen kam es zu außerdem zu keiner Einwanderung von Entzündungszellen in das Parenchym, obwohl eine Blutung bzw. Nekrose des Gewebes vorlag. Waren keine Leukozyten im SAR, hatte auch keine Emigration in das Parenchym stattgefunden.

Die Hypophyse

Eine *Nekrose der Hypophyse* war in vorliegendem Fallmaterial stets vorhanden, eine *Blutung* konnte in 74% der Fälle nachgewiesen werden. In 95% ließen sich *neutrophile Granulozyten*, in 30% der Fälle aktiv eingewanderte *Makrophagen* nachweisen (Verhältnis Leukozyten:Makrophagen = 3:1).

Der N. opticus

In 75% der Fälle konnte eine *Blutung des Sehnervs* festgestellt werden, *Leukozyten* waren subarachnoidal in 100%, parenchymal in 80% der Fälle anzutreffen.

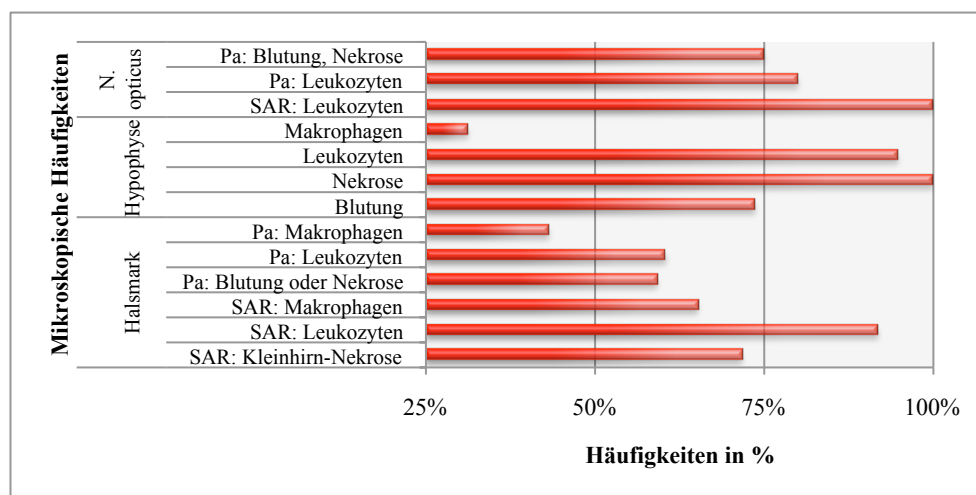


Abbildung 3.19: Prozentuale Häufigkeiten der mikroskopischen Befunde (SAR= Subarachnoidaler Raum, Pa= im Parenchym).

Unterschiede im Auftreten mikroskopischer Befunde abhängig von verschiedenen Diagnosegruppen oder Altersklassen wurden aufgrund zu geringer Fallzahlen nicht näher untersucht. Bei Klassifizierung des Fallmaterials nach dem Geschlecht waren per Exaktem Test nach Fisher keine signifikanten Unterschiede der mikroskopischen Befunde festzustellen.

(vgl. Ahg. C.4). Eine Übersicht zur Geschlechtsverteilung der Veränderungen des Halsmarks gibt Abbildung 3.20.

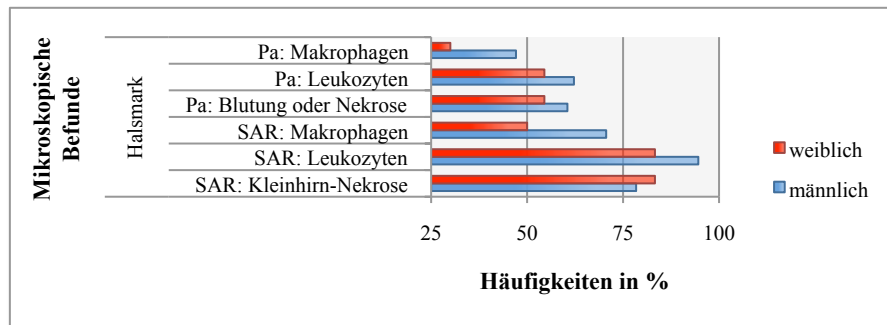


Abbildung 3.20: Prozentuale Häufigkeiten mikroskopischer Befunde des Halsmarks, klassifiziert nach dem Geschlecht (SAR= Subarachnoidaler Raum, Pa= parenchymal).

3.3 Mikroskopische Untersuchungen:

Neuronale MAP2-Expression im Ammonshorn

3.3.1 Beobachtete Strukturveränderungen

Der überwiegende Anteil der Großhirn-Nervenzellen des Menschen exprimiert MAP2, während andere Nervenzellen, z.B. die Purkinjezellen des Kleinhirns, mit dem Antikörper nicht reagieren. Der Farbniederschlag ist granulär bis homogen im Zytoplasma der Nervenzellen erkennbar und setzte sich in die Dendriten fort. Offenbar in Abhängigkeit von der Agoniedauer - und einer damit assoziierten evtl. rezidivierenden zerebralen Ischämie sowie zusätzlich einer Reihe von anderen Faktoren - ist die Anzahl der positiv reagierenden Neurone von Fall zu Fall unterschiedlich. Eine breite Streuung in jedem Kontrollkollektiv ist die Regel, da jedes Sterben unterschiedlich abläuft und eine detaillierte Dokumentation aller einwirkenden Faktoren nicht möglich ist. Ferner ist bis auf den heutigen Tag unklar, ob mit der Expression ein bestimmter Funktionszustand der Nervenzelle bezeichnet werden kann. Diesen Normalbefunden des Kontrollkollektivs (n=17) stehen unsere Beobachtungen an Hirntodesfällen (n=27) gegenüber, in denen der übliche rotbraune Farbniederschlag im Perikaryon der meisten Nervenzellen des Ammonshorns extrem abgeschwächt bis nicht vorhanden war. Die Schatten der Nervenzellen waren trotz fehlender Expression erkennbar. Es konnten regelmäßig - teils vereinzelt, teils in Gruppen - positiv reagierende Neurone auch in Hirntodesfällen beobachtet werden. Somit fand sich eine gewisse Variabilität der neuronalen Reaktion sowohl in Hirntod- als auch in Kontrollfällen.

In den folgenden Abbildungen werden MAP2-positiv reagierende Nervenzellen in der Ammonshornformation anhand einer Auswahl fotografisch dokumentierter Befunde des „Hirntod-“ sowie des „Kontrollkollektivs“ (Akutversterben) dargestellt (Abb. 3.21-23).

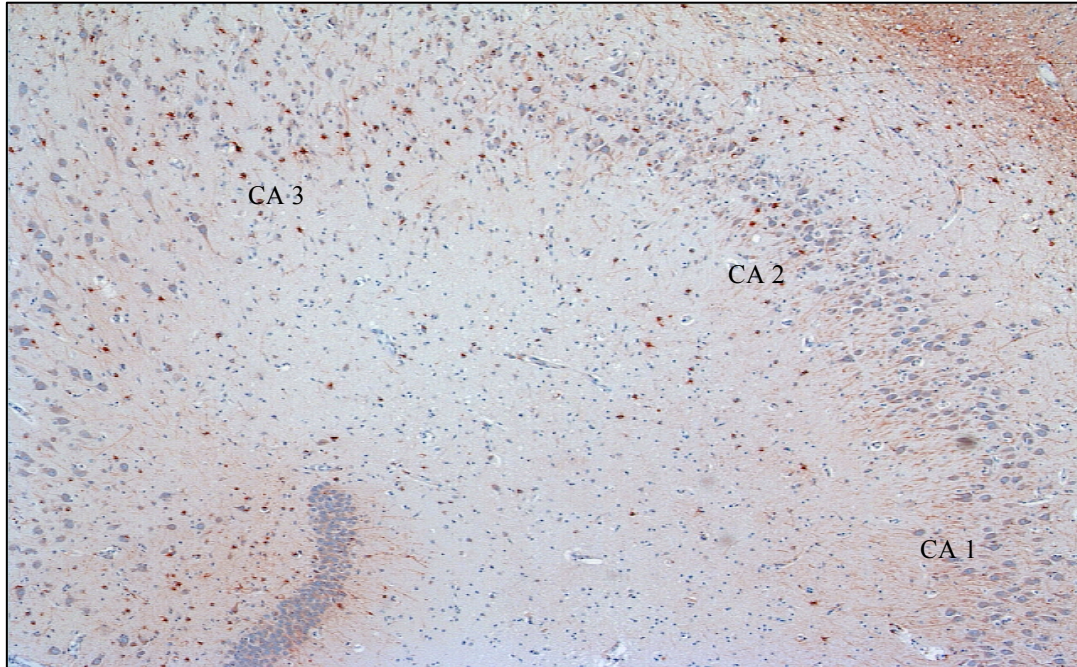


Abbildung 3.21: Fotografische Darstellung von Nervenzellen der Ammonshornregion mittels MAP2-Immunreaktivität. Übersicht der Ammonshornsegmente CA3-CA1 eines Hirntod-Falls mit fehlender immunhistochemischer MAP2 Antigen-Antikörperreaktion der Nervenzellen in allen Segmenten. Auffallend starke MAP2-Expression der Astrozyten. Fallnummer 48 (S 193 /00). Vergrößerung 100x.

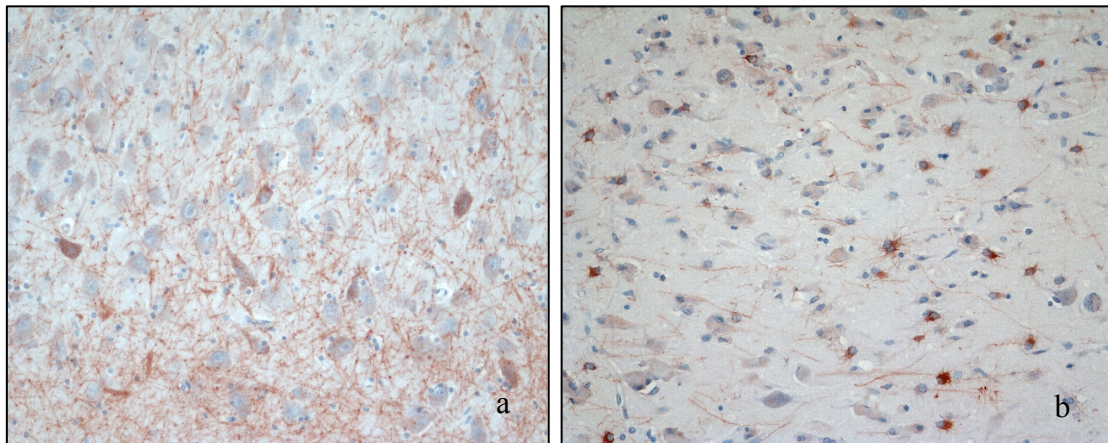


Abbildung 3.22: Fotografische Darstellung von Nervenzellen der Ammonshornregion zweier Hirntod-Fälle nach immunhistochemischer MAP2-Reaktion.

- a) CA1-Region des Ammonshorns. Vereinzelt MAP2-positive Nervenzellen bei überwiegend fehlender MAP2-Reaktivität. Deutliche, teilweise punktuelle MAP2-Expression der Dendriten. Fallnummer 10 (S 29 /05). Vergrößerung 500x.
- b) CA3-Region des Ammonshorns. Keine MAP2 Antigen-Antikörperreaktion der Nervenzellen. Schwache Anfärbung der Dendriten, starke MAP2-Expression von Astrozyten. Fallnummer 48 (S 193 /00). Vergrößerung 500x.

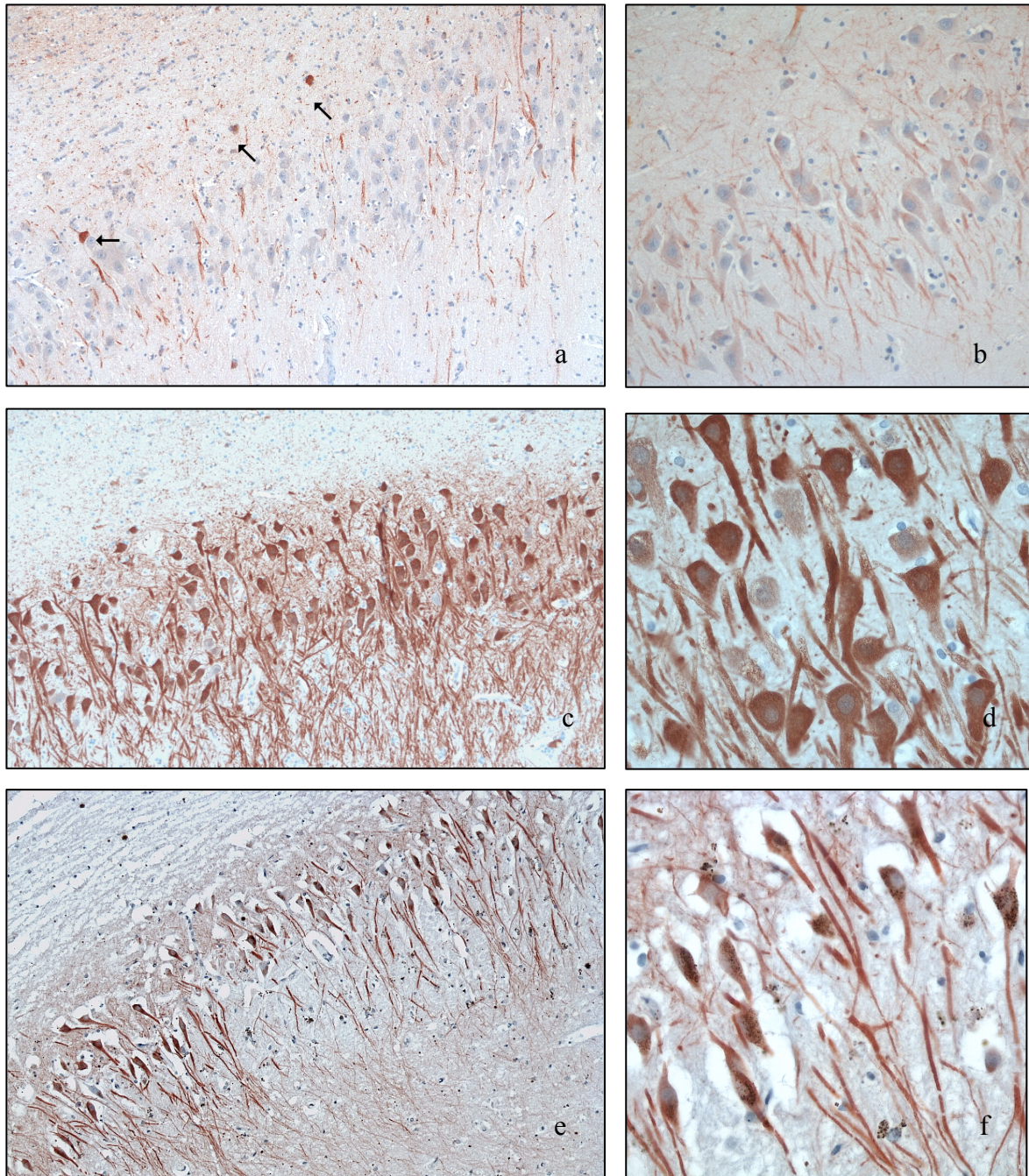


Abbildung 3.23: Fotografische Darstellung von Nervenzellen der Ammonshornformation nach immunhistochemischer MAP2-Reaktion.

a-b: Hirntod-Fall. a) Vereinzelnt MAP2-positive Nervenzellen in CA2 (Pfeile) bei überwiegend fehlender MAP2-Reaktivität. Teilweise Anfärbung der Dendriten. Fallnummer 123 (S 161 /94), Vergrößerung 300x.
b) Detaillierte Darstellung der CA2-Region. Keine MAP2 Antigen-Antikörperreaktion der Nervenzellen. Schwache Anfärbung der Dendriten. Fallnummer 67 (S 113 /99). Vergrößerung 500x.

c-d: Kontroll-Fall (Akutversterben). Starke neuronale MAP2-Expression innerhalb der Regionen CA2 (c, Vergrößerung 300x) und CA1 (d, Vergrößerung 800x). Fallnummer K 6 (S 166 /98).

e-f: Sonderfall (Hirntod). In etwa 10% der Hirntodfälle konnte eine deutliche MAP2-Immunreaktivität festgestellt werden. Hier dargestellt ist die CA2-Region eines Sonderfalls. Die Nervenzellen sind leicht geschrumpft, das Hirngewebe weist ausgeprägte ödematöse Veränderungen auf. Fallnummer 68 (S 111 /99). Vergrößerung 300x (e) - 800x (f).

3.3.2 Vergleich der CA-Regionen innerhalb des Hirntod-Kollektivs

Die folgenden quantitativen Ergebnisse beruhen auf den in Kapitel 2.4.3 beschriebenen statistischen Testverfahren. Erfasst wurde der prozentuale Anteil MAP2-exprimierender (positiver) Neurone der verschiedenen Segmente des Ammonshorns (CA4- bis CA1-Region).

Bei Betrachtung der Hirntod-Fälle konnten Unterschiede der neuronalen MAP2-Expression innerhalb der verschiedenen CA-Regionen des Ammonshorns durch Anwendung des Friedman-Tests mit einer exakten Signifikanz von $p=0,000$ beschrieben werden. Der korrigierte Wilcoxon-Test ergab nachfolgend ein signifikant geringeres Vorkommen MAP2-positiver Neurone in der CA1-Region des Ammonshorns im Vergleich zu allen anderen CA-Regionen ($p \leq 0,004$). Die Regionen CA2, CA3 und CA4 unterschieden sich nicht signifikant voneinander (siehe Abb. 3.24, zur deskriptiven Statistik siehe Ahg. B.4, Darstellung der statistischen Signifikanz Ahg. C.5).

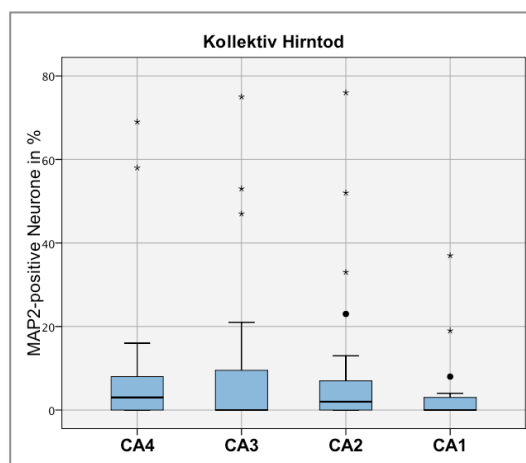


Abbildung 3.24: Vergleich der MAP2-Expression der Rindensegmente (CA-Regionen) der Ammonshornformation des Hirntodkollektivs (Boxplots).

3.3.3 Vergleich der Kollektive „Hirntod“ und „Kontrolle“ (Akutversterben)

Die prozentual ausgewerteten Ergebnisse des Hirntod-Kollektivs (CA4- bis CA1-Region) wurden den Auswertungen eines Kontrollkollektivs (Akutversterben, vgl. Kap. 2.1.3 und 2.4.2) gegenübergestellt. Die wiedergegebene Graphik anhand von Boxplots lässt einen deutlichen Unterschied der Kollektive bezüglich ihres Expressionsverhalten von MAP2 innerhalb der vier verschiedenen CA-Regionen der Ammonshornformation erkennen (siehe Abb. 3.25). Die Einzelergebnisse des Anteils MAP2-exprimierender Neurone nach Auszählung von je 100 Nervenzellen sind für beide Kollektive in tabellarischer Form im

Anhang aufgeführt (Ahg. A.5 und A.6), ebenso wie deskriptive statistische Werte (Ahg. B.4 und B.5).

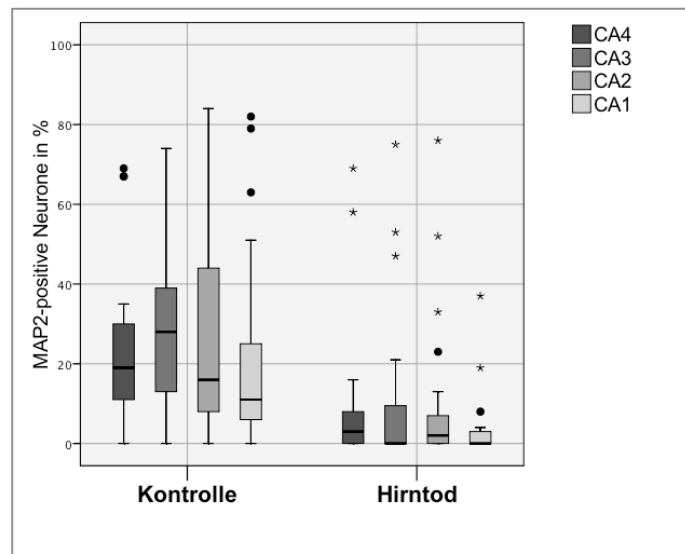


Abbildung 3.25: Synopsis der MAP2-Expression verschiedener CA-Regionen (Ammonshorn), Vergleich des Hirntod-Kollektivs mit einem Kontrollkollektiv (Akutversterben).

Neben der graphischen Aufzeichnung mittels Boxplots wurde das Kollektiv der diagnostizierten Hirntodfälle durch Anwendung des Mann-Whitney-U-Tests dem Kontrollkollektiv (Akutversterben) gegenübergestellt. Das Ergebnis bestätigte den signifikanten Verlust MAP2-exprimierender Neurone des Hirntodkollektivs im Gegensatz zum Kontrollkollektiv in sämtlichen CA-Regionen. Die Rangstatistik lieferte exakte Signifikanzwerte von $p \leq 0,001$ (Ahg. C.6).

Zur graphischen Verdeutlichung der hochsignifikanten Befunde sei die vergleichende Darstellung einzelner CA-Regionen in Form von Boxplots aufgeführt (siehe Abb. 3.26). Deskriptive statistische Werte wurden tabellarisch im Anhang aufgelistet (B.4 und B.5).

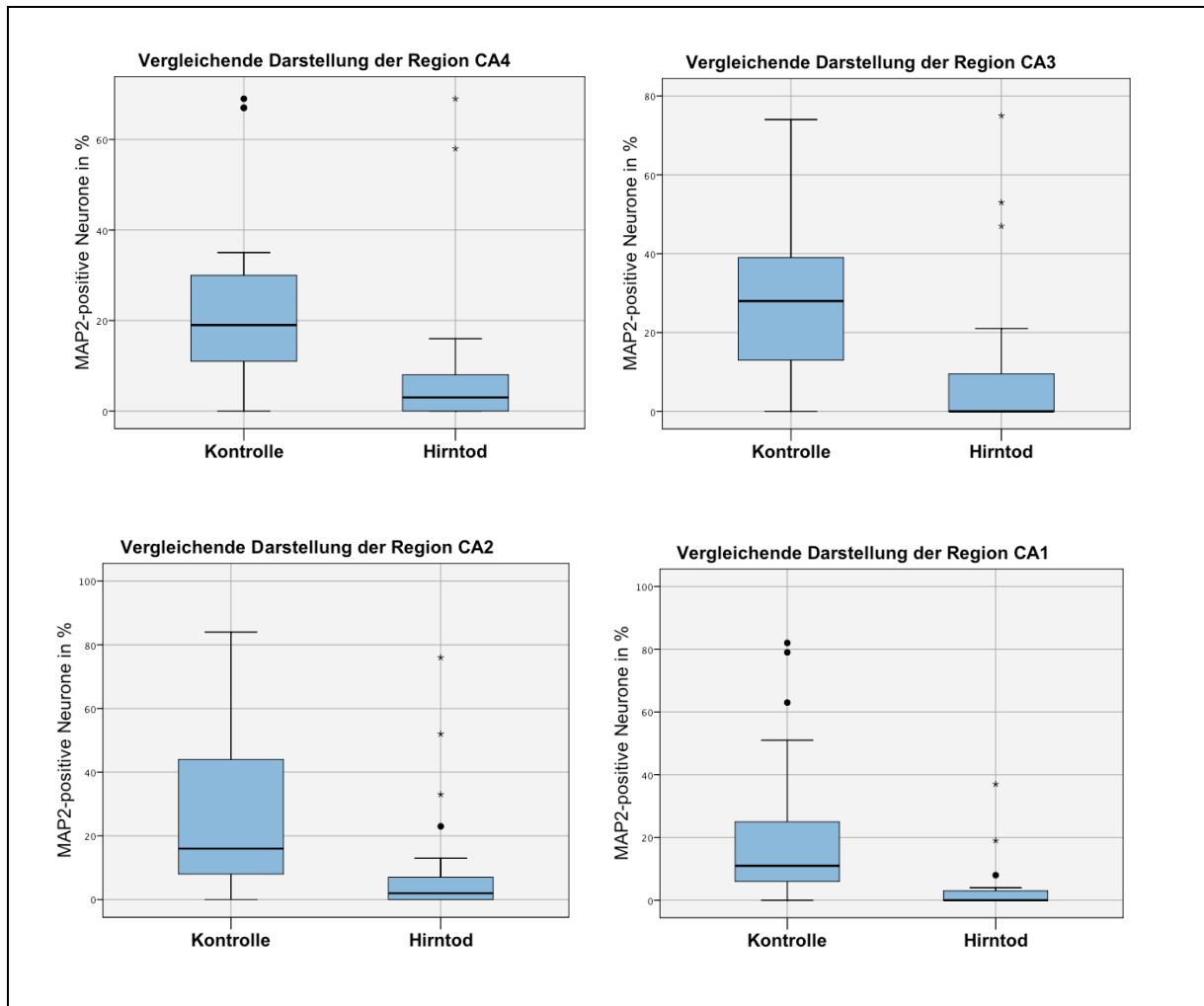


Abbildung 3.26: Vergleich der MAP2-Expression des Hirntod- und Kontrollkollektivs (Akutversterben), gegliedert entsprechend den Rindensegmenten (CA-Regionen) der Ammonshornformation (Boxplots).

Neben dem statistisch als hoch signifikant bewerteten Unterschied der Kollektive Akutversterben vs. Hirntod und der auch optisch deutlich sichtbaren Minderexpression des MAP2 innerhalb des Hirntodkollektivs (Boxplots) konnten jedoch Fälle beobachtet werden, die unter gleichen immunhistochemischen Bedingungen extrem abweichende Ergebnisse präsentierten. So gab es unter dem Hirntodkollektiv drei Fälle (Fall-Nr. 68, 88 und 92), die ein hoch differentes Färbeverhalten im Vergleich zu anderen Fällen gleicher Ordnung aufwiesen (vgl. Abb. 3.23 e-f). Diese „Sonderfälle“ zeigten ihre Ausschläge vorwiegend in den CA-Regionen 3 und 4, wiesen jedoch ebenfalls in den zwei anderen Rindensegmenten eine deutlich erhöhte Expression von MAP2 - im Gegensatz zu anderen Hirntod-Fällen - auf. Im folgenden Kapitel 3.3.4 werden sie daher gesondert aufgeführt und einer detaillierten Fall-Analyse unterzogen. In den graphischen Darstellungen (Boxplots) werden die Sonderfälle

durch Sternchen bzw. Punkt markiert und sind in sämtlichen statistischen Berechnungen enthalten, wobei ein Ausschluss dieser Sonderfälle die Endergebnisse der statistischen Auswertungen praktisch nicht beeinflusst hätte (vgl. Abb. 3.25 und 3.26).

Auch innerhalb des Kontrollkollektivs fanden sich drei Fälle, die in einigen CA-Regionen eine deutliche Reduktion der MAP2-Expression zu verzeichnen hatten (Kontrollfall-Nr. K2, K5 und K13), ohne dass hierfür anhand der Akten eine plausible Begründung gefunden werden konnte.

3.3.4 Kasuistik: Drei Sonderfälle eines Hirntodes

- **Fallnummer:** 92 → S 55/97, männlich, 54 Jahre²⁹

Diagnose → Zentrales Regulationsversagen bei SDH unbekannter Genese (stumpfe Gewalt, z.B. Sturz)

Zeitpunkt des kausalen Ereignisses → Unbekannt. Der Patient wurde am 04.04.1997 gegen 0.⁰⁰ Uhr hilflos auf der Straße liegend aufgefunden. Es bestand der Verdacht auf eine Alkohol-Intoxikation. Im Polizeigewahrsam wurde er bewusstlos und anschließend verspätet ins Krankenhaus eingewiesen. Am 05.04.1997 um 7.¹⁰ Uhr → Notfall-Operation, osteoklastische Trepanation und Entfernung des SDH. Nachblutung postoperativ (Kontusionsblutungen).

1. *Hirntod-Diagnose* → 08.04.1997, 24.⁰⁰ Uhr

2. *Hirntod-Diagnose* → 09.04.1997, 13.⁰⁰ Uhr

Organentnahme → Ja

Beatmungsende → 09.04.1997, 18.³⁰ Uhr

Hirnbefund → Gewicht nativ: 1510g, Brückenblutung, Kleinhirn-Nekrose

Halsmark → keine Blutung, keine Nekrose, jedoch nekrotisches Kleinhirngewebe im SAR, Leukozyten- und Makrophagen- Emigration (Demarkation), Siderophagen

Hypophyse → nicht untersucht

N. opticus → nicht untersucht

- **Fallnummer:** 88 → S 135/97, männlich, 42 Jahre

Diagnose → Zentrales Regulationsversagen bei traumatischem SDH rechts, massive Zeichen der Einklemmung, keine Indikation für operativen Eingriff

²⁹ Namen werden aus Datenschutzgründen nicht angegeben

Zeitpunkt des kausalen Ereignisses → 17.08.1997 um 0.³⁰ Uhr (Schlägerei im Hafengelände), um 4.⁰⁰ Uhr hilflos aufgefunden.

1. *Hirntod-Diagnose* → 18.08.1997, 07.⁰⁰ Uhr

2. *Hirntod-Diagnose* → 19.08.1997, 1.¹⁸ Uhr

Organentnahme → Nein

Beatmungsende → 19.08.1997, 16.⁰⁰ Uhr (Asystolie um 17.⁰⁰ Uhr)

Hirnbefund → Gewicht nativ 1475g, Kleinhirn-Nekrose, Brückenblutung

Halsmark → Blutung, Nekrose, abgetropftes Kleinhirngewebe, Leukozyten (Demarkation)

Hypophyse → nicht untersucht

N. opticus → keine Nekrose, Leukozyten (Demarkation)

- **Fallnummer:** 68 → S 111/99, männlich, 55 Jahre

Diagnose → SDH nach Sturz

Zeitpunkt des kausalen Ereignisses → 03.08.1997 um 24.⁰⁰ Uhr hilflos am Boden einer Treppe aufgefunden, um 1.³⁰ Uhr Operation, osteoklastische Trepanation und Entfernung des SDH

1. *Hirntod-Diagnose* → 04.08.1997, 17.³⁰ Uhr

2. *Hirntod-Diagnose* → 05.08.1997, 07.³⁰ Uhr

Organentnahme → Ja

Beatmungsende → 05.08.1997, 15.⁴⁵ Uhr

Hirnbefund → Gewicht 1760g, Kleinhirn-Nekrose, Brückenblutung

Halsmark → Nekrose, abgetropftes Kleinhirngewebe, Leukozyten (Demarkation)

Hypophyse → Blutung, Nekrose, Leukozyten (Demarkation)

N. opticus → Leukozyten (Demarkation)

3.3.5 Zur MAP2-Expression in Astrozyten

Sowohl unter den Kontrollfällen als auch innerhalb des Hirntod-Kollektivs konnten einige Fälle beobachtet werden, in denen eine Darstellung der MAP2-Expression durch Astrozyten stattfand. Diese waren überwiegend in der CA4-Region anzutreffen, teilweise zugleich in der CA4- und CA3-Region, selten in CA2 und sehr selten in CA1. Nur sehr wenige bzw. keine Neurone exprimierten in diesen Fällen MAP2 (vgl. Abb. 3.21 und 3.22 b).

3.4 Korrelation mit der Dauer der erhaltenen Kreislauffunktion

3.4.1 Vorbemerkung

Die Untersuchungen bezüglich der Relevanz einer Zeitkomponente im Auftreten morphologischer Befunde der Hirntod-Fälle (Gesamtkollektiv) basieren auf verschiedenen „Zeitintervallen“, die wegen differenter pathophysiologischer und evtl. auch morphologischer Hintergründe einer separaten Prüfung unterzogen werden müssen (vgl. Kap. 2.1.1. Es sei darauf hingewiesen, dass nicht in allen Fällen die Zeitangaben vollständig zur Verfügung standen):

1. **A-C**: Zeitdauer vom ursächlichen Ereignis bis zur Beendigung der Beatmung:
Mittelwert: 137,03 Std. (min: 9; max: 2508), n=140
2. **A-B**: Zeitdauer vom ursächlichen Ereignis bis zur 1. Hirntod-Diagnose:
Mittelwert: 74,55 Std. (min: 0,16; max: 996), n=96
3. **B-C**: Zeitdauer von der 1. Hirntod-Diagnose bis zum Abbruch der Beatmung:
Mittelwert: 30,33 Std. (min: 2; max: 192), n=87

Die Fälle des Gesamtkollektivs wurden anhand der Länge (Std.) des jeweiligen Zeitintervalls in Gruppen von 1 (kurze Zeitspanne) bis vier (lange Zeitspanne), wie in Tabelle 3.9 angegeben, klassifiziert. Das Auftreten der morphologischen Befunde der Hirntod-Fälle konnte so in Korrelation zu der Länge der verschiedenen Zeitintervalle (Zeitgruppen 1 bis 4) aufgezeichnet werden.

	1	2	3	4
A-B	0,16 - 21 (n=24)	23 - 41,5 (n=24)	48 - 84 (n=25)	90 - 996 (n=23)
B-C	2 - 12 (n=19)	13 - 23,5 (n=23)	24 - 37 (n=23)	40 - 192 (n=22)
A-C	9 - 47 (n=32)	48 - 72 (n=36)	73 - 132 (n=36)	151 - 2508 (n=36)

Tabelle 3.9: Einteilung der verschiedenen Zeitintervalle der Hirntodesfälle (A-B, B-C, A-C) in verschiedene Zeitklassen (1=kurz, 4=lang), Angaben in Stunden.

3.4.2 Das Hirngewicht in Abhängigkeit von der Zeit

In den verschiedenen, bereits bekannten Zeitintervallen (A-C, A-B, B-C) erfolgte eine Aufzeichnung der mittleren nativen Hirngewichte des Gesamtkollektivs. Säuglinge und Kinder unter 13 Lebensjahren wurden aufgrund ihres verhältnismäßig geringen Hirngewichts

von dieser Untersuchung ausgeschlossen, hierbei handelte es sich um 15 Fälle, sodass sich die Gesamtzahl der Fälle reduziert ($n=134$). Bei den folgenden Ergebnissen muss jeweils berücksichtigt werden, dass es sich um das *postmortale* Gewicht des Gehirns handelt, und dieses retrospektiv zeitlich zugeordnet wurde.

Wie aus Abbildung 3.27 ersichtlich, war das native Hirngewicht bereits bis 21 Std. nach dem kausalen Ereignis (Trauma, Herzinfarkt u.w.) gegenüber dem Normalgewicht eines männlichen (1380 - 1430g) bzw. weiblichen (1250 - 1294g) Gehirns erhöht. Nach 23 Std. zeichnete sich bei männlichem Hirngewicht eine Zunahme auf über 1550g ab, die nach einem leichten Regress drei Tage postkausal (48-84 Std.) auf mittlere Werte von 1580g anstieg. Das weibliche Gehirn verhielt sich ähnlich: Nach einem Anstieg des Gewichts auf nahezu 1400g, konnte drei Tage postkausal (48-84 Std.) ein Rückgang um etwa 50g verzeichnet werden. Ab 90 Std. wurden Maximalwerte von im Mittel 1480g erreicht.

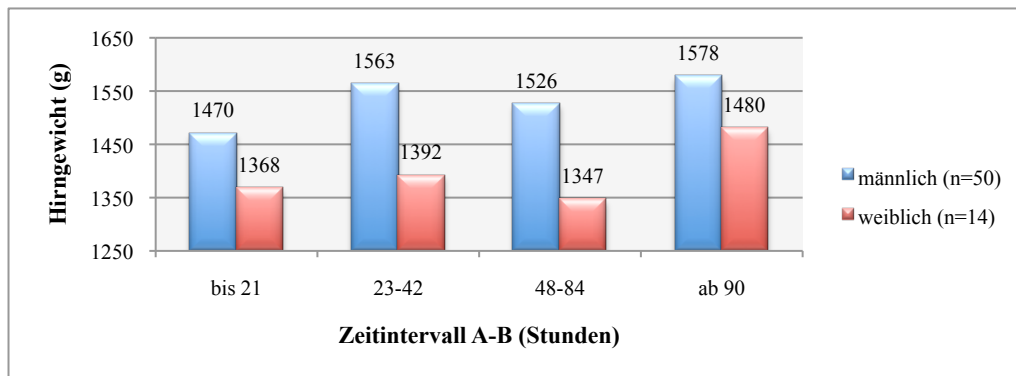


Abbildung 3.27: Veränderungen des nativen Hirngewichts (Mittelwerte) in Abhängigkeit von der Zeit des ursächlichen, zum Hirntod führenden Ereignisses bis zur ersten Hirntod-Diagnose (Zeitintervall A-B). Angaben für Mann ($n=50$, blau) und Frau ($n=14$, rot) getrennt.

Im Zeitraum zwischen der ersten klinisch dokumentierten Hirntod-Diagnose und dem Abbruch der Beatmung (siehe Abb. 3.28) lag das mittlere Hirngewicht in den ersten 12 Std. geschlechtsunabhängig bei etwa 1475g. Im weiteren Verlauf zeigte sich unter männlichen Gehirnen eine deutliche Gewichtszunahme auf über 1600g nach 24-37 Std., unter weiblichen Gehirnen fiel das Hirngewicht in dieser Zeit auf Werte, die einen Normalbefund allenfalls gering übersteigen. Nach einer Intervalldauer von 40 Std. bis zu über einer Woche fand auch bei männlichem Hirngewicht eine deutliche Abnahme statt.

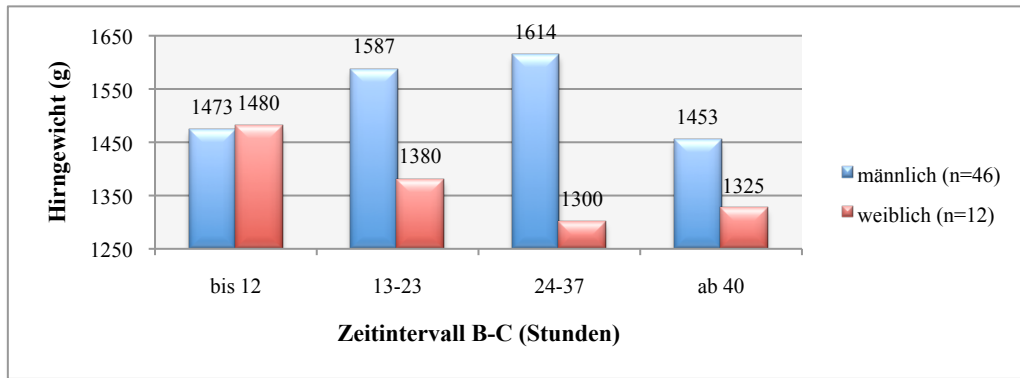


Abbildung 3.28: Veränderungen des nativen Hirngewichts (Mittelwerte) in Abhängigkeit von der Zeit der ersten Hirntod-Diagnose bis zum Abbruch der Beatmung (Zeitintervall B-C). Angaben für Mann (n=46, blau) und Frau (n=12, rot) getrennt.

Das umfassende Zeitintervall (A-C) von dem den Hirntod begründenden Ereignis bis zum Abbruch aller intensivmedizinischen Leistungen konnte bis 47 Std. postkausal ein erhöhtes mittleres Hirngewicht von 1582g beim Mann bzw. 1426g bei der Frau aufzeigen (siehe Abb. 3.29). Zwei bis drei Tage nach ursächlichem Ereignis fand sich ein Rückgang des Gewichts in beiden Geschlechtern um etwa 100g, nach spätestens fünf Tagen (73-132 Std.) war eine erneute Volumenzunahme festzustellen, die beim Mann deutlich, bei der Frau gering ausgeprägt war. Wochen bis Monate später (151-2508 Std.) konnten unter beiden Geschlechtern extrem erhöhte Messwerte von im Mittel über 1600g bei männlichem und über 1500 g bei weiblichem Hirngewicht verzeichnet werden. Diese Ergebnisse decken sich gut mit denen in Abb. 3.27 dargestellten Auswertungen des Zeitintervalls A-B.

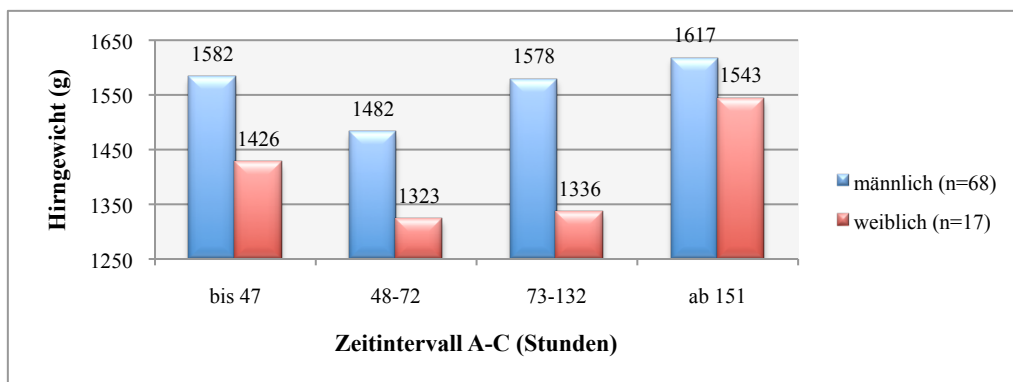


Abbildung 3.29: Veränderungen des nativen Hirngewichts (Mittelwerte) in Abhängigkeit von der Zeit des ursächlichen, zum Hirntod führenden Ereignis zum Abbruch der Beatmung (Zeitintervall A-C). Angaben für Mann (n=68, blau) und Frau (n=17, rot) getrennt.

3.4.3 Makroskopische Befunde in Abhängigkeit von der Zeit

Eine zusammenfassende Übersicht der Ergebnisse dieser Untersuchungen erfolgte durch Darstellung der prozentualen Häufigkeiten der makroskopischen Befunde innerhalb der Zeitgruppen 1 (kurz) bis 4 (lang) eines jeden Zeitintervalls in tabellarischer Form (vgl. Tab. 3.10). Die absoluten Häufigkeiten der einzelnen Befunde dieser Gegenüberstellung sind dem Anhang zu entnehmen (Ahg. B.2).

Makroskopische Befunde, Häufigkeiten in %		Zeitintervall A-B				Zeitintervall B-C				Zeitintervall A-C			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Gehirn	Abflachung der Gyri	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	Kleinhirndruckkonus	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	Uncusschnürfurche	95,8	100	100	100	100	95,7	100	100	96,9	100	100	100
	Tonsillennekrose	66,7	79,2	88	87	73,7	82,6	87	86,4	68,8	72,2	86,1	80,6
	Brückenblutung/ -nekrose	65,2	83,3	79,2	78,3	73,7	82,6	86,4	71,4	61,3	80,6	74,3	72,2
	Mittellinienverlagerung	33,3	58,3	46	39,1	42,1	56,5	52,2	27,3	43,8	52,8	38,9	55,6
	Hämorrhag. Infarkt okzipital	0	26	18,2	22,7	10,5	10	25	23,8	10	18,2	27,3	8,3
Hals- mark	Kleinhirnnnekrose	63,2	64,3	93,3	88,2	71,4	70,6	85,7	85,7	61,9	68,2	87	88,9
	Markblutung/ -nekrose	25	42,9	92,9	56,3	46,2	35,3	64,3	64,3	42,9	42,9	62,5	68,8
	EDB, SDB, SAB	44,4	53,3	53,3	61,5	75	50	33,3	54,5	42,1	50	37,5	50

Tabelle 3.10: Prozentuale Häufigkeiten makroskopischer Befunde innerhalb verschiedener Zeitintervalle klassifiziert nach der Dauer des jeweiligen Zeitintervalls (1=kurz < 2 < 3 < 4=lang; EDB= Epidurale Blutung, SDB= Subdurale Blutung, SAB= Subarachnoidale Blutung).

Je nach Länge der Zeitintervalle verhielt sich das Auftreten der verschiedenen makroskopischen Befunde in Abhängigkeit von der Dauer des Intervalls wie folgend graphisch anhand von gruppierten Balkendiagrammen dargestellt (Abb. 3.30, 3.31, 3.32). Auf die Angabe der Befunde einer *Abflachung der Hirnwindungen* sowie eines *Kleinhirndruckkonus* wurde wegen 100%-iger Präsenz in sämtlichen Fällen verzichtet.

Zeitintervall A-B

Durch Abfolge der zeitlich sortierten Balken der Graphik werden die prozentualen Häufigkeiten der verschiedenen makroskopischen Befunde in Abhängigkeit von der Zeit repräsentiert (Abb. 3.30). Es wird deutlich, dass sämtliche pathologischen Befunde des Gehirns und des Halsmarks bis 21 Std. nach dem zum Hirntod führenden ursächlichen Ereignis (Zeitgruppe 1) geringste Präsenz aufwiesen, ab 23 bis 41 Std. (Zeitgruppe 2) sowie im weiteren zeitlichen Verlauf (siehe weitere Zeitgruppen) hingegen eine deutliche Zunahme der Häufigkeiten im Vergleich zur Zeitgruppe 1 dargestellt werden konnte. Auffällig in

diesem Zusammenhang war, dass die pathologischen Befunde größtenteils bereits in der Zeitspanne 1 (nach 21 Std.) in meist weit mehr als 50% der Fälle vorhanden waren.

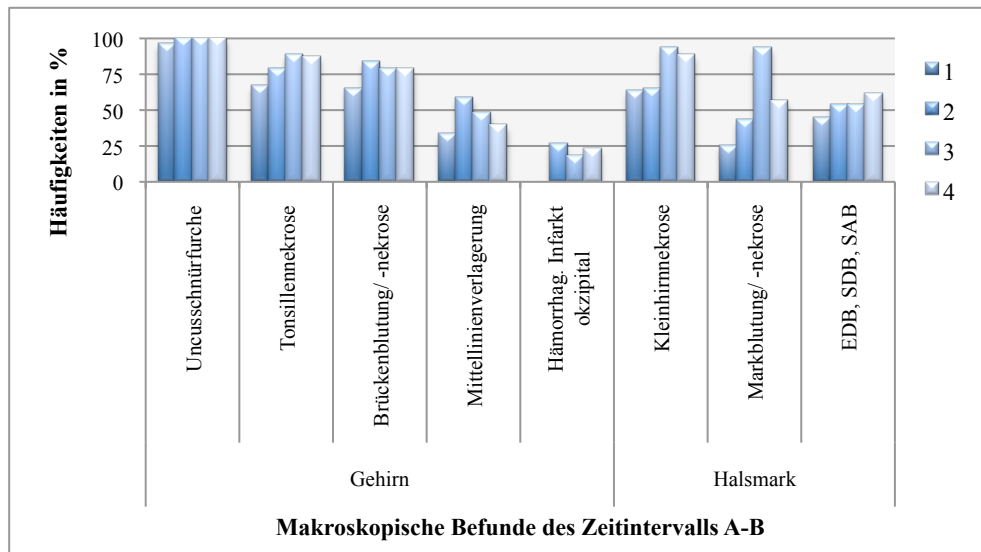


Abbildung 3.30: Makroskopische Befunde innerhalb des Zeitintervalls A-B (1= kurze Dauer < 2 < 3 < 4= lange Dauer des Intervalls; EDB= Epidurale Blutung, SDB= Subdurale Blutung, SAB= Subarachnoidale Blutung).

Im weiteren zeitlichen Verlauf konnte ein deutlicher Häufigkeitszuwachs vor allem innerhalb der Demarkationszone (Halsmark) beobachtet werden: 48-84 Std. nach ursächlichem Ereignis (Zeitgruppe 3) war eine kontinuierliche Zunahme in Fällen einer *Tonsillennekrose* und deutlich in den Befunden des Halsmarks nachzuweisen. Das Auftreten von *abgetropftem Kleinhirngewebe in den Halswirbelkanal (Kleinhirnnekrose)* erfuhr einen deutlichen Zuwachs ab 48 Std. (Zeitgruppe 3) von 64 auf 93%, im Gegensatz zum Befund der *Nekrose der Kleinhirntonsillen*, der eine stetige Zunahme schon ab 23 Std. von 67 auf 79% (Zeitgruppe 2) bis auf 88% nach 48 Std. zeigte. Nach 90 Std. (Zeitgruppe 4) konnte eine weitere Steigerung der Häufigkeiten innerhalb des Zeitintervalls von ursächlichem Ereignis bis erster Hirntod-Diagnose nicht mehr nachgewiesen werden.

Zeitintervall B-C

Auch innerhalb des Zeitintervalls B-C ist auffällig, dass bereits nach den ersten 12 Std. (Zeitgruppe 1) die meisten morphologischen Veränderungen in mehr als 50% der Fälle vorhanden waren. In 100% der Fälle sind morphologische Veränderungen im Sinne von einer *Abflachung der Hirnwindungen*, einem *Kleinhirndruckkonus*, einer *Uncuschnürfurche* sowie *Nekrosen der Hypophyse und des N.opticus* vorhanden (siehe Abb. 3.31).

Eine Zunahme der Häufigkeiten pathologischer Befunde in Abhängigkeit von der Zeit war im Fall einer *Nekrose der Kleinhirntonsillen* festzustellen, die unter 12 Std. in 74% (Zeitgruppe

1), unter 24 Std. in 83% (Zeitgruppe 2) und über 24 Std. nach stattgefundener Hirntod-Diagnostik in 87% der Fälle festgestellt wurde. Das Auftreten von *nekrotischem Kleinhirngewebe in dem Halswirbelkanal* erfuhr erst ab einer Dauer des Zeitintervalls von 24 Std. (Zeitgruppe 3) eine deutliche Zunahme von 71 auf 86%. Auch weitere morphologische Veränderungen traten mit zunehmender Dauer des Zeitintervalls häufiger auf, jedoch nie in sämtlichen Fällen zu 100%.

In der Zeitgruppe 4 (40 bis 192 Std.) konnte keine weitere Zunahme der Fallzahl, bei keiner der morphologischen Veränderungen, beobachtet werden.

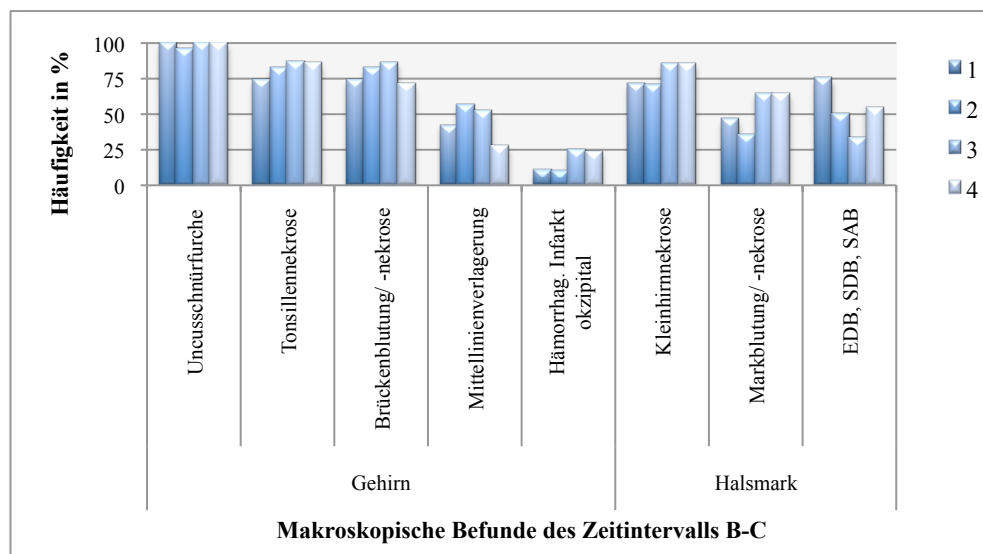


Abbildung 3.31: Makroskopische Befunde innerhalb des Zeitintervalls B-C (1= kurze Dauer < 2 < 3 < 4= lange Dauer des Intervalls; EDB= Epidurale Blutung, SDB= Subdurale Blutung, SAB= Subarachnoidale Blutung).

Zeitintervall A-C

Das Zeitintervall A-C umfasst die gesamte Zeitspanne von dem Zeitpunkt des zum Hirntod führenden, ursächlichen Ereignis bis zum Abbruch sämtlicher intensivmedizinischer Maßnahmen (Beatmung). Diese beiden Zeitpunkte scheinen gegenüber dem Zeitpunkt der Hirntod-Diagnostik (B) in der Mehrzahl der Fälle mit weitaus höherer Präzision fassbar zu sein (vgl. Kap. 2.1).

Eine kontinuierliche Zunahme der makroskopischen Befunde wurde hier am ehesten erkennbar: Eine *Tonsillennekrose* mit *in den Spinalkanal abgetropftem Kleinhirngewebe* und weitere Veränderungen des Halsmarks (vgl. Abb. 3.32) ließen eine Zunahme mit der Zeitdauer erkennen. Eine *Nekrose der Tonsillen* erfuhr innerhalb dieses Zeitintervalls (A-C) einen deutlichen Häufigkeitszuwachs ab 73 Std. (Zeitgruppe 3), ebenso wie das Auftreten von makroskopisch sichtbarem *Kleinhirngewebe im Halswirbelkanal* (ab 48 Std. in 68% und ab

73 Std. in 87% der Fälle vorhanden). Auch *Nekrosen und druckbedingte Blutungen des Zervikalmarks* fanden sich ab 73 Std. häufiger (43% vs. 63% in Zeitgruppe 3, 70% in Zeitgruppe 4). Eine graphische Aufzeichnung findet sich in Abbildung 3.32.

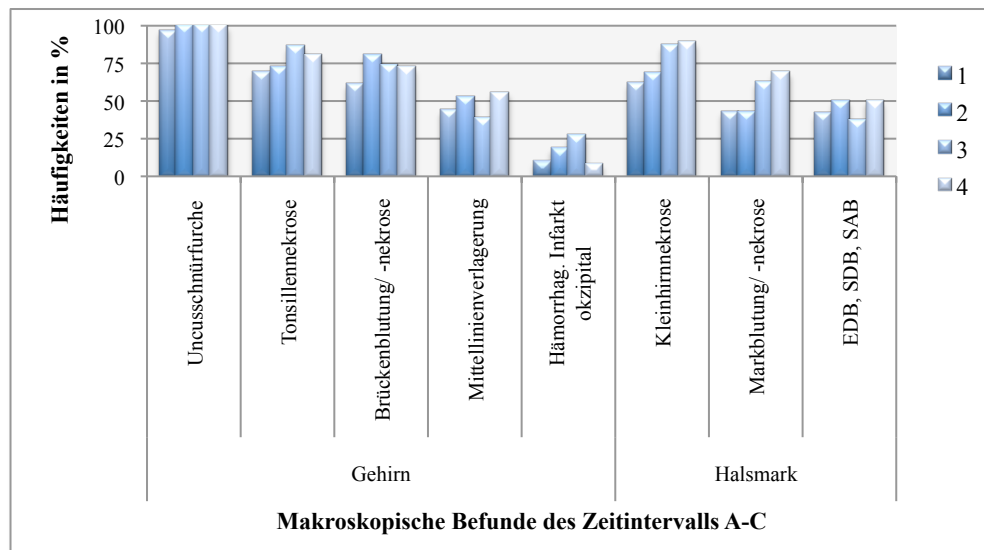


Abbildung 3.32: Makroskopische Befunde innerhalb des Zeitintervalls A-C (1= kurze Dauer < 2 < 3 < 4= lange Dauer des Intervalls; EDB= Epidurale Blutung, SDB= Subdurale Blutung, SAB= Subarachnoidale Blutung).

Fazit: In 100% der untersuchten Fälle konnten eine *Abflachung der Hirnwindungen*, ein *Kleinhirndruckkonus* und eine *Uncuschnürfurche* schon nach 47 Std. (Zeitgruppe 1) festgestellt werden. Weitere morphologische Befunde zeigten größtenteils eine kontinuierliche Häufigkeitszunahme in Abhängigkeit von der Zeit, waren jedoch nie in 100% der Fälle präsent.

3.4.4 Mikroskopische Befunde der Demarkationszonen in Abhängigkeit von der Zeit

Die Korrelation von mikroskopischen Befunden und Zeitintervallen wurde zusammenfassend in Tabelle 3.11 dargestellt. Zugrundeliegende Fallzahlen sind dem Anhang (Ahg. B.3) zu entnehmen.

Zellreaktionen im Sinne von Blutzellreaktionen als Hinweis auf einen entzündlichen - hier abakteriellen - Prozess, sind vor allem innerhalb der Grenzzonen zu erwarten, da aus dem intrakraniellen Kreislaufstillstand eine Nekrose des gesamten Gehirns resultiert (vgl. Kap. 1.5).

Die Befunde einer *Nekrose der Hypophyse* sowie das Vorkommen von *Leukozyten innerhalb der Hypophyse* (nicht in Zeitintervall A-C) und des *N. opticus (subarachnoidal)* wurden

wegen ihres Auftretens in 100% der Fälle in den graphischen Abbildungen nicht näher berücksichtigt.

Da einige Auswertungen auf extrem geringen Fallzahlen ($n < 5$) basieren, können hier allenfalls „Tendenzen“ eines zeitabhängigen Verhaltens mikroskopischer Befunde aufgezeigt werden (vgl. Ahg. B.3).

Mikroskopische Befunde, Häufigkeiten in %		Zeitintervall A-B				Zeitintervall B-C				Zeitintervall A-C			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Halsmark	SAR: Kleinhirn-Nekrose	50	70	90,9	100	63,6	78,6	87,5	83,3	69,2	54,5	100	90,9
	SAR: Leukozyten	88,9	91,7	90,9	100	91,7	93,3	90	100	91,7	84,6	100	90
	SAR: Makrophagen	66,7	66,7	60	50	50	80	40	100	60	71,4	50	80
	Pa: Blutung, Nekrose	33,3	83,3	63,6	41,7	25	60	66,7	80	50	66,7	50	60
	Pa: Leukozyten	33,3	72,7	54,5	66,7	50	60	77,8	40	58,3	50	58,3	80
	Pa: Makrophagen	37,5	30	40	45,5	36,4	35,7	33,3	60	36,4	41,7	45,5	50
Hypophyse	Blutung	100	71,4	80	100	-	57,1	100	100	66,7	83,3	66,7	66,7
	Nekrose	100	100	100	100	-	100	100	100	100	100	100	100
	Leukozyten	100	100	100	100	-	100	100	100	100	100	100	80
	Makrophagen	0	16,7	25	0	-	20	20	0	33,3	25	33,3	40
Schnerv	SAR: Leukozyten	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	Pa: Leukozyten	-	80	83,3	66,7	100	75	80	100	100	75	66,7	100
	Pa: Blutung, Nekrose	0	60	83,3	83,3	100	62,5	80	100	50	75	83,3	100

Tabelle 3.11: Prozentuale Häufigkeiten mikroskopischer Befunde innerhalb verschiedener Zeitintervalle, klassifiziert nach Dauer des jeweiligen Zeitintervalls (1=kurz < 2 < 3 < 4=lang, SAR= Subarachnoidaler Raum, Pa= im Parenchym).

Zeitintervall A-B

Auf den Quer- und Längsschnitten des Halsmarks konnte mit zunehmender Dauer des Zeitintervalls zwischen kausalem Ereignis und erster bestätigter Hirntoddiagnostik (A-B) eine Zunahme der Häufigkeit von Fällen verzeichnen werden, bei denen durch die mikroskopische Diagnostik *nekrotisches Kleinhirngewebe im Halswirbelkanal (SAR: Kleinhirn-Nekrose)* festgestellt wurde. Das subarachnoidale Vorkommen von *Leukozyten* lag bereits unter 21 Std. (Zeitgruppe 1) bei etwa 90% und stieg ab 90 Std. auf 100% an (vgl. Abb. 3.33).

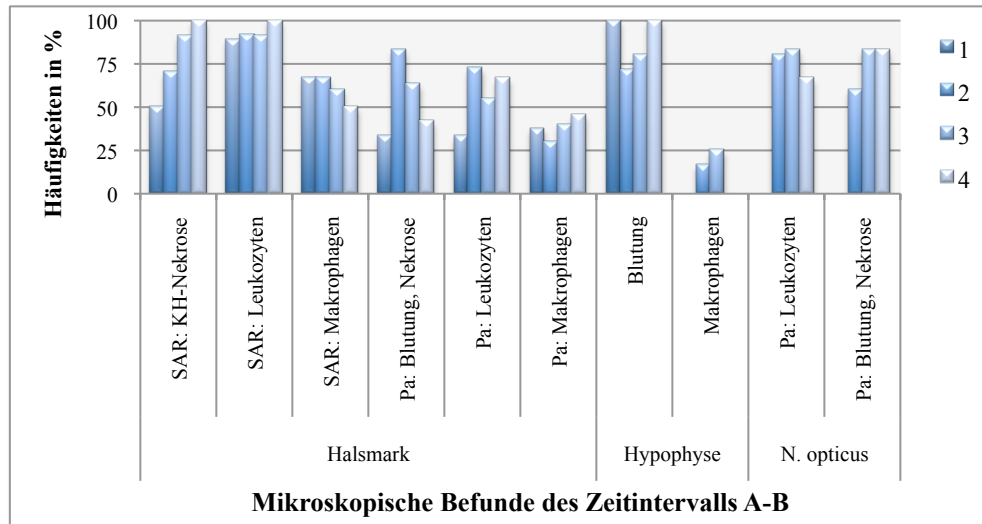


Abbildung 3.33: Auftreten mikroskopischer Befunde des Halsmarks, der Hypophyse und des N. opticus innerhalb des Zeitintervalls A-B (1= kurze Dauer < 2 < 3 < 4= lange Dauer des Intervalls; SAR= Subarachnoidaler Raum, Pa= im Parenchym, KH= Kleinhirn).

Makrophagen im Subarachnoidalraum des Halsmarks konnten primär nur in knapp über 60% der Fälle beobachtet werden, ihre Anzahl nahm anschließend eher ab. In das Parenchym eingewanderte *Makrophagen* fanden sich dahingegen in stärkster Präsenz ab 48 Std. (Zeitgruppe 3 bis 4). Gehäuftes Auftreten reaktiv in das Parenchym eingewanderter *Leukozyten* konnte bereits ab einer Zeitdauer von 23-41 Std. (Zeitgruppe 2) nachgewiesen werden. *Blutungen und/oder Nekrosen des Halsmarks* wiesen keine eindeutige Zeitkorrelation auf: Eine starke Zunahme ab 23-41 Std. war deutlich ersichtlich, ab 48 Std. musste ein rückläufiger Befund verzeichnet werden. Hirndruckbedingte *Blutungen der Brücke* sowie in das Parenchym eingewanderte *Markophagen* skizzierten eher eine im Zeitverlauf zunehmende Anzahl (cave: geringe Fallzahlen der Gruppen 1 und 4). Eine *Blutung oder Nekrose des Sehnervs* trat zeitabhängig häufiger auf, auch emigrierte *Leukozyten* fanden sich gehäuft in 23-84 Std. nach ursächlichem Ereignis (Zeitgruppe 2 und 3).

Zeitintervall B-C

In dem Zeitintervall zwischen erster Diagnose des Hirntodes und der Beendigung der Beatmung zeigten die mikroskopischen Befunde größtenteils eine positive Korrelation zur Intervalldauer. *Nekrotisches Kleinhirngewebe* und das Vorkommen *reaktiver Zellen* im Subarachnoidalraum des Halsmarks konnten mit zunehmender Intervalldauer häufiger festgestellt werden. In Korrelation zur Länge des Zeitintervalls stand auch der Befund einer *parenchymalen Blutung oder Nekrose des Halsmarks* (siehe Abb. 3.34).

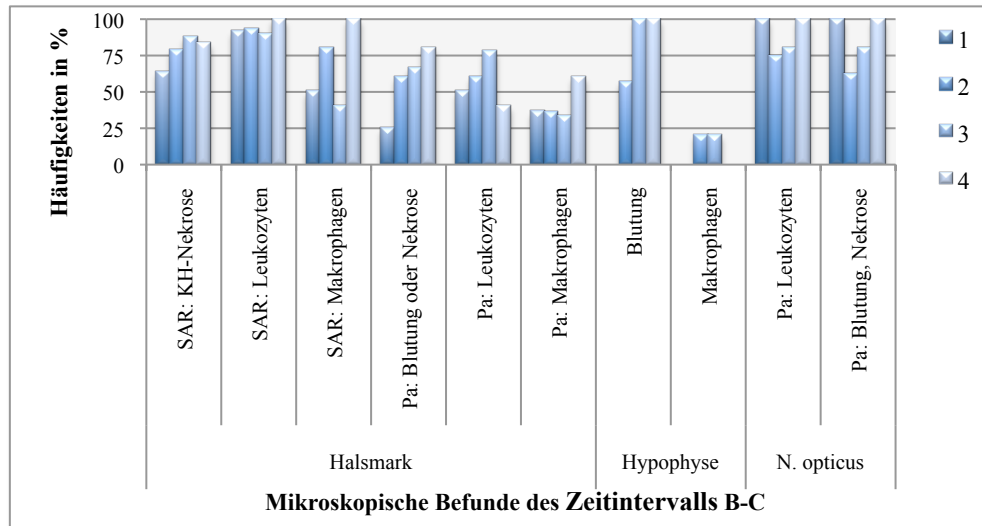


Abbildung 3.34: Auftreten mikroskopischer Befunde des Halsmarks, der Hypophyse und des N. opticus innerhalb des Zeitintervalls B-C (1= kurze Dauer < 2 < 3 < 4= lange Dauer des Intervalls; SAR= Subarachnoidalraum, Pa= im Parenchym, KH= Kleinhirn).

Parenchymal eingewanderte *Leukozyten* zeigten nach zeitabhängig wachsender Häufigkeit ab 40 Std. einen Rückgang, eingewanderte *Makrophagen* erreichten ihre maximale Präsenz erst ab dieser Zeit (40 Std., Zeitgruppe 4). Alle Formen der Reaktion waren jedoch bereits in den kürzesten untersuchten Zeitintervallen in einem gewissen Prozentsatz der Fälle vorhanden (vgl. Abb. 3.34).

Blutungen innerhalb der Hypophyse fanden sich gehäuft bereits ab 24 Std.. Auf eine Aussage zum Auftreten von *Makrophagen* wurde aufgrund geringer Fallzahlen verzichtet. Die Befunde des *N. opticus* waren ebenfalls aufgrund geringer Fallzahlen der Zeitgruppen 1 und 4 lediglich mit Vorsicht zu bewerten, es zeichnete sich jedoch tendenziell - besonders im Falle einer Nekrose - ein mit der Zeit häufigeres Auftreten ab.

Zeitintervall A-C

Im Zeitintervall ab dem Zeitpunkt des zum Hirntod führenden Ereignis bis zur Beendigung sämtlicher kreislaufstützender Maßnahmen (A-C) wurde mit zunehmender Dauer der Befund von *nekrotischem Kleinhirngewebe* im Halswirbelkanal häufiger festgestellt. Die maximale Ausprägung subarachnoidal eingewanderter *Leukozyten* konnte bei relativ konstantem Verhalten gegenüber der Zeit am ehesten der Zeitgruppe 3 (ab 73 Std.) zugeordnet werden, *Makrophagen* wurden verstärkt erst in fortgeschrittenen Zeitstadien (Zeitgruppe 4, ab 132 Std.) aufgefunden. Ins Parenchym des Halsmarks eingewanderte *reaktive Zellen* (Leukozyten und Makrophagen) waren im Laufe der Zeit häufiger anzutreffen (vgl. Abb. 3.35).

Eine *Blutung oder Nekrose des Halsmarks* konnte im Intervall A-C zeitlich nur schwer eingeordnet werden: Ab 48 Std. trat sie häufiger auf, ab 73 Std. vermindert (Zeitgruppe 3), und in späteren Stadien war wiederum ein Anstieg der Häufigkeit vorhanden (ab 132 Std.).

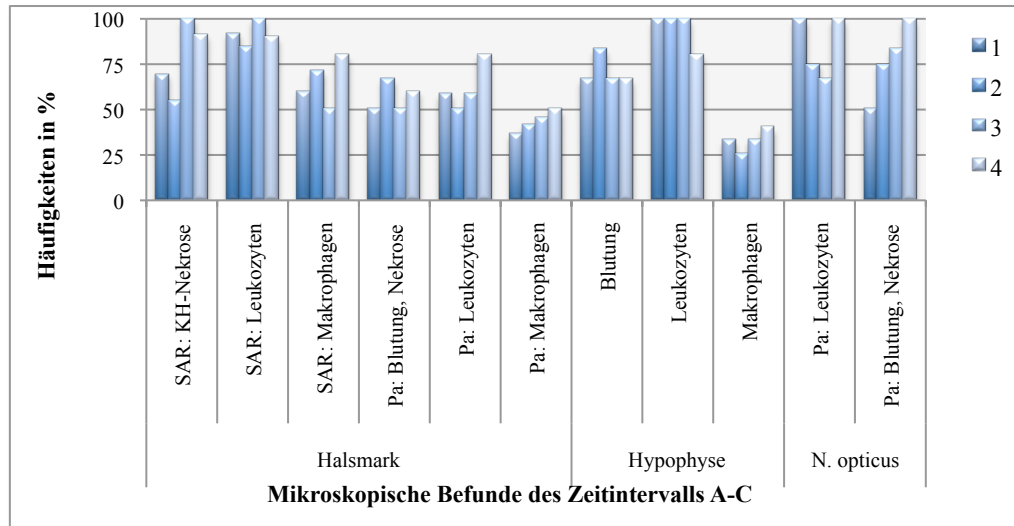


Abbildung 3.35: Auftreten mikroskopischer Befunde des Halsmarks, der Hypophyse und des N. opticus innerhalb des Zeitintervalls A-C (1= kurze Dauer < 2 < 3 < 4= lange Dauer des Intervalls; SAR= Subarachnoidaler Raum, Pa= im Parenchym, KH= Kleinhirn).

Hypophysäre Blutungen zeigten ein zeitlich relativ konstantes Auftreten mit einem Häufigkeitsmaximum nach 73-132 Std. postkausal, *Leukozyten* kamen bis 150 Std. in 100% der Fälle vor, in längeren Intervallen nur noch in 80%. Die Häufigkeit von *Makrophagen* stieg mit Zunahme der Intervalllänge an.

Blutungen oder eine Nekrose des Sehnervs lieferten ebenfalls eine positive Korrelation zur Zeit: Bis 47 Std. postkausal waren die Befunde in der Hälfte der Fälle, ab 150 Std. (Zeitgruppe 4) in 100% anzutreffen. Dem Auftreten parenchymaler Leukozyten konnte hier kein zeitabhängiges Verhalten nachgewiesen werden (vgl. 3.35).

3.4.5 Neuronale MAP2-Expression in Abhängigkeit von der Zeit

Zeitabhängige Veränderungen der neuronalen Expression von MAP2 innerhalb der Ammonshornformation wurden anhand von Boxplots dargestellt. Deskriptive statistische Werte sind im Anhang (B.6-8) ersichtlich. Die drei Sonderfälle mit ihrer extrem hohen MAP2-Expression (vgl. Kapitel 3.3.3-4) wurden von diesen Untersuchungen ausgeschlossen, da durch ihre Zugehörigkeit zu bestimmten, von extern vorgegebenen Zeitgruppen (Beatmungszeit) ein sinnvoller Vergleich nicht möglich gewesen wäre.

Abbildung 3.36 zeigt die Expression von MAP2 der verschiedenen Regionen der Ammonshornformation in Abhängigkeit von der Dauer der Zeitintervalle A-B (links) und B-C (rechts).

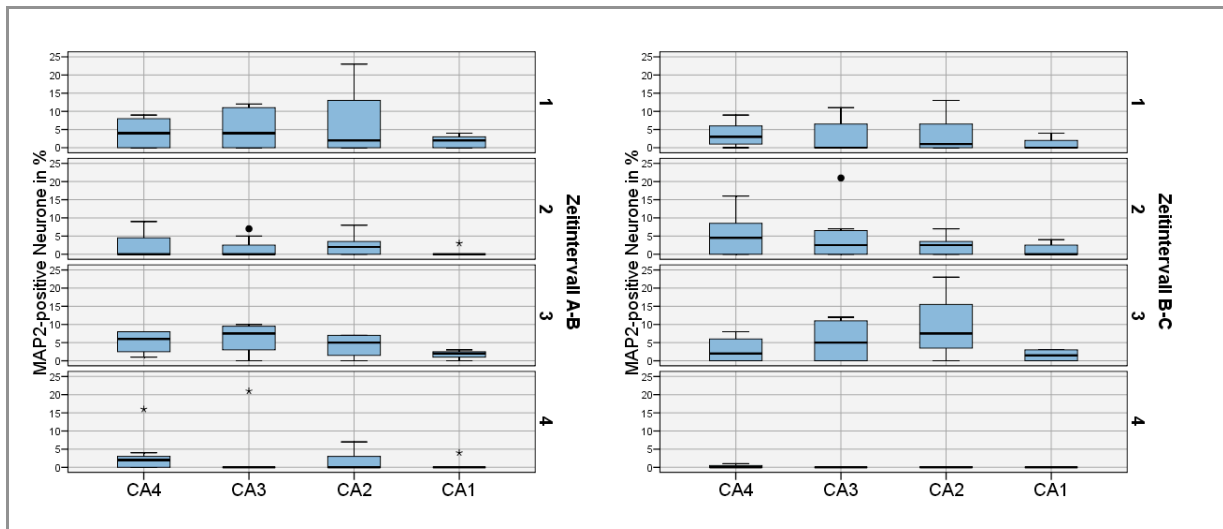


Abbildung 3.36: Veränderungen der neuronalen Expression von MAP2 im Ammonshorn (CA4- bis CA1-Region) in Abhängigkeit von der Zeit. Darstellung des Zeitintervalls A-B (linke Abbildung, n=24) und des Zeitintervalls B-C (rechte Abbildung, n=24). 1=kurze < 2 < 3 < 4=lange Zeitdauer. Darstellung per Boxplots.

Innerhalb des Zeitintervalls A-B (siehe Abb. 3.36, links) verringerte sich die Anzahl MAP2-exprimierender Neurone in den Regionen CA1, CA3 und CA4 ab 24 Std. postkausal (Zeitgruppe 2) erheblich, während der Median der Region CA2 unverändert blieb (Wert: 2). 48-84 Std. postkausal (Zeitgruppe 3) fand sich in sämtlichen CA-Regionen ein erneuter Anstieg der MAP2-Expression, die medianen Werte waren auch gegenüber der Zeitgruppe 1 erhöht. Der stärkste Anstieg zeigte sich innerhalb der Region CA3. Auffällig war nach 90 Std. ein erneuter Rückgang der Anzahl MAP2-positiv gefärbter Neurone in sämtlichen CA-Regionen.

Innerhalb des Zeitintervalls B-C (siehe Abb. 3.36, rechts) stieg der Median der neuronalen MAP2-Expression der CA4-Region bis 24 Std. nach Hirntoddiagnostik von 3 auf 4,5 (Zeitgruppe 2) und fiel nach 24-37 Std. (Zeitgruppe 3) auf 2 ab. Mediane Werte der CA3- und CA2-Region stiegen bis 37 Std. stetig an. Die CA1-Region zeigte ebenfalls in der Zeitgruppe 3 den höchsten Median von 1,5 (gegenüber 0 in Zeitgruppe 1 und 2). Auffällig war auch in diesem Zeitintervall ein kompletter Ausfall der MAP2-Expression in der Zeitgruppe 4 (ab 40 Std.).

Die Gegenüberstellung MAP2-positiver Neurone innerhalb des Zeitintervalls A-C (siehe Abb. 3.37) konnte einen Abfall der medianen Werte nach 48 Std. postkausal in den CA-Regionen 4

und 3 aufzeigen, einen leichten Anstieg in CA2 und keine Veränderung in CA1 (Wert: 0). Nach 73 Std. (Zeitgruppe 3) fand sich in allen Regionen des Ammonshorns, besonders in CA2 und CA3, eine erhöhte Expression des MAP2, welche - wiederum in sämtlichen CA-Regionen - ab 150 Std. (Zeitgruppe 4) fast vollkommen erloschen war.

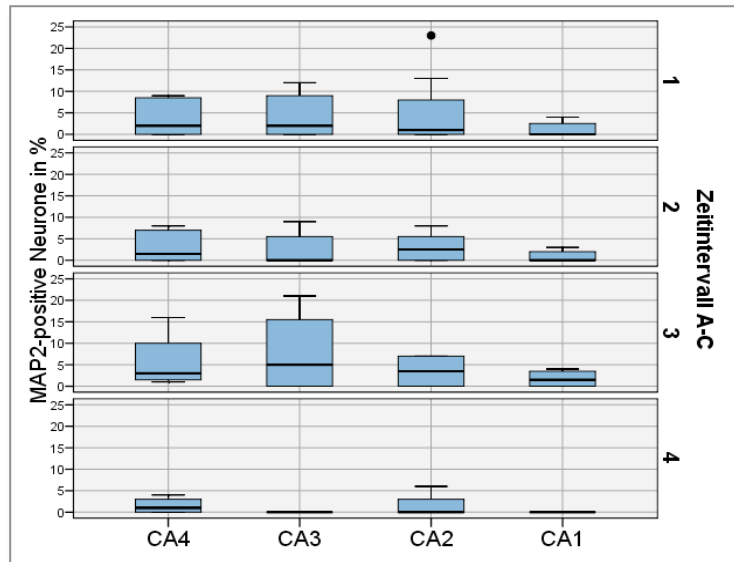


Abbildung 3.37: Veränderungen der neuronalen Expression von MAP2 im Ammonshorn (CA4- bis CA1-Region) innerhalb des Zeitintervalls von kausalem Ereignis bis zum Abbruch der Beatmung (A-C), n=24. 1=kurze < 2 < 3 < 4=lange Zeitdauer. Darstellung per Boxplots.

3.4.6 Morphologische Befunde klassifiziert nach Diagnosegruppen, Alter und Geschlecht in Abhängigkeit von der Zeit

Eine differenzierte Analyse einzelner morphologischer Befunde verschiedener Klassifikationen in Korrelation zur Überlebens- bzw. Hirntodzeit soll hier nicht aufgeführt werden.

Allerdings sollen einige Bemerkungen zu den Zeitintervallen abhängig von Diagnosegruppe, Alter und Geschlecht nicht unerwähnt bleiben:

Der Hirntod wurde in Fällen der Diagnosegruppe I (n=67) 62,6 Std. nach kausalem Ereignis diagnostiziert, während er in Fällen der Diagnosegruppe II (n=25) erst nach 110,3 Std. und in der Gruppe III (n=4) schon nach 52 Std. festgestellt wurde (Zeitintervall A-B). Bei weiblichem Geschlecht hat eine Hirntod-Diagnostik im Mittel nach 58 Std. stattgefunden (n=28), bei männlichem dagegen erst nach 81 Std. (n=68). Abhängig vom Alter nimmt das Zeitintervall zwischen kausalem Ereignis und Feststellung des Hirntodes mit dem Alter ab (bis 20 Jahre → 102 Std., 21-40 Jahre → 78 Std., 41-60 Jahre → 61 Std., ab 60 Jahren → 57 Std. bis zur Hirntod-Diagnostik).

4. Diskussion

4.1 Neuropathologische Kriterien bei klinischer Diagnose „Hirntod“

4.1.1 Aktuelle Auswertungen vor entwicklungsgeschichtlichem Hintergrund

Obgleich die ersten Beobachtungen des heute als „hirntot“ bezeichneten Zustandes nur selten unabhängig ihres pathologisch-anatomischen Substrates beschrieben wurden (Mollaret u. Goulon 1959, Mollaret et al. 1959, Bertrand et al. 1959, Kramer 1963), und erst die morphologische Untersuchung des Gehirns und Rückenmarks Rückschlüsse auf zugrundeliegende pathophysiologische Aspekte erlaubte, waren neuropathologische Erkenntnisse für die Weiterentwicklung eines „Hirntod-Konzeptes“ von untergeordneter Relevanz. Entgegen der operationalen Definition des Hirntodes als „*totaler Hirninfarkt*“ durch Ingvar (1973, Schneider et al. 1969, Schneider u. Matakas 1973, Jørgensen 1973, Flemming et al. 1974) wurde das charakteristische „*klinische Zustandsbild*“ (Gerstenbrand 1969, vgl. Silverman et al. 1963) mehrheitlich definiert als endgültiger und irreversibler „*Funktionsverlust des Gesamtgehirns*“ (Literatur bei Stratmann 1978: S.14). Demnach erfolgt die Feststellung des Hirntodes auf der Grundlage funktionsorientierter Untersuchungsmethoden. Die klinischen Zeichen sind seit über vier Jahrzehnten „*uneingeschränkt gültig*“ (vgl. WB-BÄK 1997). Essentiell für die Definition des Hirntodes - und auf klinischer, medizin-ethischer und juristischer Basis gerechtfertigt (vgl. Kapitel 1.3-4) - müssen die Kriterien der Hirntoddiagnostik dem Fortschritt der medizinischen Wissenschaft unterliegen und diesem gegebenenfalls angepasst werden. So erfuhren die Stellungnahmen des WB-BÄK seit 1982 drei Fortschreibungen infolge apparatetechnischer Neuerungen, „*mittels derer die zweifelsfreie Feststellung des Hirntodes leichter und schneller erfolgen*“ konnte (Moskopp 2005)³⁰.

Umso interessanter erscheint das aktuelle pathomorphologische Korrelat: Eine veränderte Dynamik der klinischen Hirntoddiagnostik dürfte mit einer Veränderung des neuropathologischen Befundspektrums einhergehen, da die Ausprägung morphologischer Veränderungen - wie auch eigene Untersuchungen bestätigen konnten - zeitabhängig ist. Da die Erfolge der Transplantationsmedizin auf einer möglichst zügigen Organentnahme nach Feststellung des Hirntodes beruhen, bedeutet dies gleichzeitig eine Verkürzung der

³⁰ Statt einer zweiten klinischen Untersuchung nach einem Zeitraum von mindestens 12 Stunden können zum Nachweis der Irreversibilität bestimmte apparative Zusatzuntersuchungen verwendet werden (siehe Kap. 1.4.2 und Fußnote 9).

„Hirntodzeit“ (B-C= Zeitintervall von erster Hirntod-Diagnostik bis zur Beendigung der Beatmung), und damit eine frühzeitig mögliche Sektion des Gehirns. Aktuelle Publikationen von Wijdsicks u. Pfeifer (2008) sowie Saposnik u. Muñoz (2008) sehen hier die Ursache einer im Vergleich zu früheren Untersuchungen geringeren Ausprägung pathomorphologischer Befunde. Da der Zeitpunkt der Hirntod-Diagnostik eine subjektive Entscheidung der behandelnden Ärzte darstellt, könnte auch eine aktuelle Verkürzung der Zeit bis zur Hirntod-Diagnostik (A-B, „Überlebenszeit“) vorliegen. Um eben diese Veränderungen innerhalb verschiedener Zeitepochen festzustellen, sollte in vorliegender Arbeit anhand eines vergleichsweise großen Fallmaterials ein Vergleich von aktuellen Auswertungen mit neuropathologischen Hirntod-Kriterien aus früheren Zeitepochen vorgenommen werden³¹.

4.1.2 Veränderungen der Zeitintervalle (A-B, B-C) und neuropathologischen Kriterien im Schrifttum

Die mittlere Hirntodzeit (B-C) des eigenen Fallmaterials betrug etwa 24 Std. und war bei Wijdsicks u. Pfeifer (2008) auf maximal 36 Std. begrenzt - demgegenüber gaben Schneider et al. (1969) in ihren vierzig Jahre zuvor publizierten Untersuchungen eine Zeitdauer von 65 Std. an³² (vgl. Tab. 4.1). Nach Auswertungen der Deutschen Stiftung Organtransplantation (DSO) beträgt der Zeitraum zwischen Feststellung des Hirntodes und Abschluss einer Organentnahme aktuell durchschnittlich nur etwa 12 Std. (Stand: Oktober 2009). Eine Tendenz zu einer „Verkürzung der Hirntodzeit“ bis zur Sektion ist demnach anzunehmen (vgl. Wijdsicks u. Pfeifer 2008, Saposnik u. Muñoz 2008).

	Eigene Untersuchungen	Wijdsicks und Pfeifer (2008)	Schneider et al. (1969)
A-B	62 (71) Std.	66% der Fälle < 24 Std.	18 Std.
B-C	27 (23) Std.	< 36 Std.	65 Std.
A-C	108 (92) Std.	Keine Angabe möglich	83 Std.

Tabelle 4.1: Mittlere Dauer der jeweiligen Zeitintervalle in verschiedenen Studien. Die Zeitdauer des mikroskopisch untersuchten Fallmaterials wurde separat berechnet und durch Klammerung markiert (Std.= Stunden).

A-B: Zeitintervall von primärer Hirnschädigung bis zur Aufnahme der Hirntod-Diagnostik

B-C: Zeitintervall von der Aufnahme der Hirntod-Diagnostik bis zur Beendigung der Beatmung

A-C: Zeitintervall von primärer Hirnschädigung bis zur Beendigung der Beatmung

³¹ Ein gültiger Vergleich ist aufgrund von differenten Hirntod-Konzepten und -Definitionen erst etwa ab dem Jahre 1967 gerechtfertigt (vgl. Smith u. Penry 1972, Molinari 1989). In dieser Zeit wurden erste klinische Kriterien zur Hirntoddiagnostik verfasst (Deutsche Gesellschaft für Chirurgie und Anästhesie 1968, Ad Hoc Committee of the Harvard Medical School 1968) und der Ausfall der Hirnfunktion - unabhängig von morphologischen Aspekten - mit dem Tode des Gehirns gleichgesetzt.

³² Die mittlere Zeitdauer der „Hirntodzeit“ wurde anhand des Datenmaterials jeweiliger Studien eigens für diesen Vergleich errechnet.

Eine Klassifizierung des Fallmaterials „Organspender: ja/nein“ und die Aufzeichnung der exakten klinischen Diagnostik (Irreversibilitätsnachweis durch sofortige apparative Zusatzuntersuchungen oder erneute neurologische Prüfung der Hirnfunktion nach einer gewissen Zeitspanne) wurden bisher jedoch in keiner morphologischen Studie ausreichend berücksichtigt. Trotz der geringen Zeitdauer von Hirntod-Diagnostik bis Beatmungsende (B-C) widersprechen die aktuellen Ergebnisse eigener Untersuchungen von Hirntoten der Annahme einer auffallend diskreteren Ausprägung pathomorphologischer Befunde des Gehirns im Vergleich zu früheren Studien. Nach Häufigkeit und Aussagekraft gewertet werden sie in Tabelle 4.2 vergleichend dargestellt, wobei mögliche Abhängigkeiten von individuellen und fallspezifischen Faktoren, wie Alter, Geschlecht oder der Zugehörigkeit des untersuchten Materials zu bestimmten Diagnosegruppen, berücksichtigt werden konnten.

Häufigkeit (%)	Makroskopische Befunde	Mikroskopische Befunde
99 - 100	- Zunahme des Hirngewichts - Abflachung der Gyri - Kleinhirn-Druckkonus - Uncus-Schnürfurche	- Nekrose der Hypophyse - Leukozyten im SAR des N. opticus
90 - 98		- Leukozyten in der Hypophyse - Leukozyten im SAR des Halsmarks
80 - 89		- Kleinhirngewebe im SAR des Halsmarks - Leukozyten im Parenchym des N. opticus
70 - 79	- Nekrose der Kleinhirntonsillen - Kleinhirngewebe im SAR des Halsmarks - (<i>Blutung oder Nekrose der Brücke</i>)	- Druckbedingte Blutung der Hypophyse - Nekrose/Blutung des N. opticus
60 - 69		- Makrophagen im SAR des Halsmarks - Leukozyten im Parenchym des Halsmarks
50 - 59	- Nekrose/Blutung innerhalb des Halsmarks	- Nekrose/Blutung innerhalb des Halsmarks
40 - 49	- (<i>Verlagerung der Mittellinie</i>) - (<i>EDB, SDB, SAB</i>)	- Makrophagen im Parenchym des Halsmarks
30 - 39		- Makrophagen in der Hypophyse
unter 20	- (<i>Hämorrhagischer Infarkt occipital</i>)	

Tabelle 4.2: Zusammenfassender Kriterienkatalog eigener Ergebnisse: Prozentuale Häufigkeiten morphologischer Befunde in Fällen eines Hirntodes. Von äußeren (Diagnosegruppen) oder individuellen Faktoren (Lebensalter, Geschlecht) abhängige Befunde wurden durch Klammerung markiert (SAR=Subarachnoidalraum, EDB=Epiduralblutung, SAB=Subarachnoidalblutung, SDB=Subduralblutung).

Bei extrem kurzen Hirntodzeiten (B-C) wies das eigene Fallmaterial entgegen den Auswertungen von Wijndicks u. Pfeifer (2008) deutlich ausgeprägtere Schädigungen auf (vgl. Tab. 4.2), in keinem Fall präsentierte sich ein neuropathologisch völlig unauffälliges Hirnorgan. Schneider et al. (1969) beschrieben die Morphologie des Gehirns bei einer Hirntodzeit unter 36 Std. als nicht pathognomisch, erst später seien spezifische

Veränderungen erkennbar, wie die Abtropfung nekrotischen Kleinhirngewebes in den Spinalkanal oder einer Nekrose des Hypophysenvorderlappens. Demnach wären diese Befunde weder in den Untersuchungen von Wijdicks u. Pfeifer (2008), noch in den Eigenen zu erwarten. Kehl u. Schlote (1993) beobachteten in Fällen mit einer Hirntodzeit unter 40 Std. eine große Variabilität, vor allem der mikroskopischen Befunde. In nur einem Fall (von insgesamt 7 Fällen) zeigte sich eine Nekrose der Kleinhirntonsillen. Bei längerer Hirntodzeit von im Mittel 99 Std. berichten Ujihira et al. (1993) von einer extremen Pathomorphologie mit ausgeprägten autolytischen Veränderungen (vor allem der Hypophyse und den Kleinhirntonsillen) in sämtlichen Fällen (n=101). Jorgenson (1973) konnte nach Hirntodzeiten von 68, 105 und 191 Std. stets einen vollständigen Untergang mit Verflüssigung des Hirngewebes beobachten (zit. nach Unterharnscheidt 1993: S. 480). Eine zusammenfassende Darstellung der neuropathologischen Kriterien früherer Studien ist chronologisch geordnet in Tabelle 4.3 ersichtlich. Diese Tabelle dient lediglich einem informativen Überblick und ersetzt keinesfalls die in den folgenden Unterkapiteln dargestellte vergleichende Analyse.

Literatur	Fallzahl (n)	Neuropathologische Kriterien beim „Hirntod“
Eigene Untersuchungen (2009)	149 (53)	<ul style="list-style-type: none"> • Erhöhung des Hirngewichts +++, Druckzeichen +++, ischämische Zellveränderungen +++ • Strukturauflösung und Desintegration nekrotisch und autolytisch veränderten Hirngewebes, v.a. der Kleinhirntonsillen mit Abtropfung nekrotischen Kleinhirnmateri als in den Spinalkanal • Nekrose der Hypophyse (100%) • Nekrotische und reaktive Veränderungen innerhalb der Demarkationszonen Halsmark (60%), N. opticus (80%) und vor allem innerhalb der Hypophyse (95%) <p>➤ A-B = 62 (71) Std.; B-C = 27 (23) Std.; A-C = 108 (91) Std.</p>
Wijdicks u. Pfeifer (2008)	41	<ul style="list-style-type: none"> • Erhöhung des Hirngewichts +++, Druckzeichen +++, ischämische Zellveränderungen ++ • Keine „Totalnekrose“, neuronale Zellverluste durch Ischämie in variabler Ausprägung und diffus über das gesamte Gehirn verteilt, je nach Lokalisation mittel bis schwere Schädigungen in 53- 68%, im Hippocampus in über 74% • Autolyse des Kleinhirns in 15%, jedoch keine Abtropfung • Nekrose der Hypophyse in 45% (Halsmark, weitere Grenzzonen und eventuelle Demarkation nicht untersucht) <p>➤ A-B = 66% der Fälle < 24 Std.; B-C < 36 Std.</p>
Ujihira et al. (1993)	101	<ul style="list-style-type: none"> • Erhöhung des Hirngewichts +++, Druckzeichen +++, ischämische Zellveränderungen +++ • Nekrose der Hypophyse (100%) und des Kleinhirns (100%) • Keine reaktive Astrozytose, keine Entzündungsreaktion im Hirngewebe. • Zeitabhängigkeit vorhanden, jedoch keine Assoziation zu primärer Hirnschädigung <p>➤ Beatmungzeit im Mittel 99 Std.</p>
Kehl u. Schlote (1993)	7	<ul style="list-style-type: none"> • Erhöhung des Hirngewichts ++, Druckzeichen ++, ischämische Zellveränderungen + • Keine „Totalnekrose“, keine autolytischen Veränderungen, Kleinhirn-Nekrose in 57%, Abtropfung nur in einem Fall • Extreme Variabilität ischämischer Zellschädigungen von nahezu keiner bis extrem schwerer neuronaler Degeneration, axonale Schädigung <p>➤ Zeitdauer von der Hirntod-Diagnostik bis zur Formalinfixierung: 14 bis 40 Std.</p>
Leestma (1984)	32	<ul style="list-style-type: none"> • Prospektive Studie, Fallmaterial aus der NIH Collaborative Study (Koma-Patienten) • Mikroskopische Befunde extrem variabler Ausprägung, daher im Vergleich zur makroskopischen Befundung geringere Aussagekraft (vgl. Saposnik u. Muñoz 2008, Hughes 1978), wenig pathognomisch: In 44% der Fälle keine Veränderungen, in 31% minimale und in 8% schwere Schädigungen der Gehirne • „Intravitale Autolyse“, keine aktive Entzündungsreaktion

		<ul style="list-style-type: none"> ➤ Manifestation der morphologischen Befunde ab 12 Std. nach isoelektrischem EEG (elektrozerebrale Stille)
Schröder (1983)	190	<ul style="list-style-type: none"> • Enorme Variabilität der Befunde, Abtropfung von Kleinhirngewebe (im Mittel 45%, nach einer Hirntodzeit von 48 Std. in 80% der Fälle) • Völliger ischämischer Zellverlust nach einer Hirntodzeit von 48 Std. in 40% • Ischämische Zellveränderungen und Demarkation innerhalb der Grenzzonen bereits nach 8 - 12 Std. (in bis zu 25% der Fälle) • Reperfusion nach längeren Zeitintervallen (aufgrund einer Abnahme des ICP) → Massive Nekrosen und Hämorrhagien (occipital) mit Entzündungsreaktionen innerhalb des Hirngewebes
		<ul style="list-style-type: none"> ➤ Hirntodzeit 1 - 300 Std., Zeitabhängigkeit bestätigt, ischämische Zellnekrosen nehmen ab einer Hirntodzeit von 48 Std. zu
Liudkovskaia (1978)	15	<ul style="list-style-type: none"> • Keine reaktiven Veränderungen innerhalb des Hirngewebes, Demarkationszonen positiv, Nekrose der Hypophyse +++
		<ul style="list-style-type: none"> ➤ Zeitabhängigkeit bestätigt
Walker (1978)	(226)	<ul style="list-style-type: none"> • Prospektive Studie, Fallmaterial aus der NIH Collaborative Study (Koma-Patienten) • Erhöhung des Hirngewichts +++, Druckzeichen ++ („10 % of the brains looked normal“) • Variable Zellverluste in 80% der Fälle, geringe bis keine reaktiven Veränderungen im Gehirn, Gliose positiv • Selten „Totalnekrose“: Nur 1-2% zeigen komplette nekrotische Schädigung, Abtropfung von Kleinhirngewebe in 10%, Nekrose des Halsmarks in über 40%
		<ul style="list-style-type: none"> ➤ Zeitabhängigkeit bestätigt: Zunahme der morphologischen Befunde ab einer „Beatmungszeit“ von 24 Std.
Pearson et al. (1977, 1978)	12	<p>Radioisotopen-Bolustechnik zur Evaluation der Hirnperfusion:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kein zerebraler Blutfluss vorhanden → schwere Nekrose, keine reaktiven Veränderungen. Autolytische Veränderungen enorm, da Körpertemperatur konstant gehalten wird • Zerebraler Blutfluss vorhanden → leichtere Nekrose, geringere autolytische Veränderungen, keine Kleinhirn-Schädigung, aktive Entzündungsreaktion
Matakas et al. (1973)	6	<ul style="list-style-type: none"> • Experimentelle Studie einer kompletten zerebralen Ischämie, „no-reflow-phenomen“, autolytische und nekrotische Veränderungen in sämtlichen Fällen, keine reaktiven Veränderungen! • Erhöhung des Hirngewichts +++, Druckzeichen +++, ischämische Zellveränderungen +++ • Demarkationszone (Halsmark) +++
		<ul style="list-style-type: none"> ➤ Zerebrale Ischämie 6 - 48 Std., Zeitabhängigkeit bestätigt, ultrastrukturell bereits nach 6 Std. Schwellung der Astrozyten mit Hirnödemen sichtbar, nach 12 - 36 Std. nach zerebraler Ischämie verstärkte Ausprägung sämtlicher morphologischer Befunde
Schneider et al. (1969)	10	<ul style="list-style-type: none"> • Erhöhung des Hirngewichts +++, Druckzeichen +++, ischämische Zellveränderungen +++ • „Areaktive Nekrose“ des Gehirns aufgrund eines „ischämischen Totalinfarkts“, keine Gliose, „wechselnd ausgeprägte und verschieden interpretierbare Befunde“, unspezifische Veränderungen, „nicht pathognomisch“, hohe Variabilität • Nach 36 Std. spezifischere Befunde: Verlagerung nekrotischen Kleinhirngewebes in den SAR des Rückenmarks, hämorrhagische Erweichung der oberen Zervikalsegmente, Nekrose des Hypophysenvorderlappens (100%), Demarkation in 40% (nur bei ausreichend peripheren Kreislaufverhältnissen)
		<ul style="list-style-type: none"> ➤ A-B = 18 Std.; B-C = 65 Std.; A-C = 83 Std., Zeitabhängigkeit bestätigt.
Masshoff (1968)		<ul style="list-style-type: none"> • Erhöhung des Hirngewichts +++, Druckzeichen +++, ischämische Zellveränderungen +++ • „Totale ischämische Nekrose“ als „Folge eines kompletten intrakraniellen Kreislaufstillstandes“, Demarkationszone +++, autolytische Veränderungen unregelmäßig verteilt, Ausprägung der Befunde sehr variabel
		<ul style="list-style-type: none"> ➤ Zeitabhängigkeit bestätigt, daher auch Fälle ohne jegliche Veränderungen vorhanden.
Bertrand et al. (1959) Mollaret et al. (1959) Adams u. Jéquier (1960) Kramer (1963)		<ul style="list-style-type: none"> • Intravitale³³ Autolyse diffuser Ausprägung, vor allem der Basalganglien und des Hirnstamms, „Pannekrose aller Gewebelemente“ • Fehlen jeglicher glöser Reaktionen • Relativ diskrete Schädigungen von mesodermalen Strukturen, wie Blutgefäßen und Meningen

Tabelle 4.3: Übersicht der neuropathologischen Kriterien und Befunde beim „Hirntod“ verschiedener Zeitepochen (chronologisch geordnet). Zentrale Aspekte der einzelnen Studien wurden durch Punkte (•) markiert. Anmerkungen zur Dauer von Zeitintervallen oder zur Abhängigkeit morphologischer Befunde von zeitlichen Faktoren wurden durch Pfeilspitzen (➤) gekennzeichnet (Std.= Stunden). Die Zeitdauer des eigenen, mikroskopisch untersuchten Fallmaterials wurde separat berechnet und durch Klammerung markiert.

Zeitintervall A-B: Zeitpunkt des ursächlichen Ereignisses bis zum Zeitpunkt der 1. Hirntod-Diagnose

Zeitintervall B-C: Zeitpunkt der 1. Hirntod-Diagnose bis zum Zeitpunkt der Beendigung der Beatmung

Zeitintervall A-C: Zeitpunkt des ursächlichen Ereignisses bis Zeitpunkt der Beendigung der Beatmung

³³ Da der Hirntod heute definitiv als Todeskriterium des Menschen gilt, sollten Begriffe wie „intravital“ (innerhalb des Lebens) vermieden werden, um Fehlinterpretationen zu vermeiden.

Insgesamt kann eine enorme pathomorphologische Variabilität beobachtet werden: Fälle mit unspezifischen und diskret ausgeprägten Befunden finden sich ebenso wie das Vorkommen ausgedehnter Nekrosen mit „Verflüssigung“ des Hirngewebes. Vor allem in eigenen Untersuchungen konnten solch extrem ausgeprägte Hirnschädigungen bereits nach vergleichsweise kurzen Hirntodzeiten nachgewiesen werden.

Entsprechend diesen Erkenntnissen liegt es nahe, die Ausbildung pathomorphologischer Veränderungen bereits während der Zeit zwischen ursächlicher Hirnschädigung und klinischer Hirntod-Diagnostik („Überlebenszeit“, A-B) anzunehmen. Vor pathophysiologischem Hintergrund hat der Moment des klinisch fassbaren Hirntodes, definiert als vollkommener und irreversibler Funktionsausfall des Gehirns und Hirnstamms, in dieser Zeit (A-B) stattgefunden. Sie beträgt in eigenen Untersuchungen im Mittel über 60 Std. (vgl. Tab. 4.1 und 4.3). Kritisch ist die mittlere Dauer bis zur Hirntod-Diagnostik in der Studie von Schneider et al. (1969), die schon nach 18 Std. erfolgte. Hier muss, um die ausgeprägten morphologisch festgestellten Befunde (massive Volumenvermehrung mit nekrotischen Veränderungen) zu erklären, auch die Zeitdauer bis zum Beatmungsende (B-C) betrachtet werden. Sie betrug über 65 Std. (vgl. Tab. 4.1 und 4.3), die Gesamtzeit (A-C) demnach etwa 83 Std.. Diese ist mit dem Zeitintervall der eigenen Untersuchung (etwa 90 Std.) vergleichbar - ebenso wie die morphologischen Veränderungen.

Zusammenfassend deuten die Ergebnisse eigener und früherer Untersuchungen daraufhin, dass sich die Ausprägung neuropathologischer Kriterien und der Prozess des Gewebeuntergangs vollkommen unabhängig von einer klinischen Hirntod-Diagnostik darstellen (vgl. Kap. 4.3) - und offenbar auch unabhängig von klinischen Neuerungen, solange diese lediglich den funktionellen Aspekt der klinischen Diagnostik betreffen. Nach wie vor finden sich morphologische Befunde verschiedener Intensität und Ausprägung in Fällen eines Hirntodes. Die Entwicklung und Ausprägung der neuropathologischen Befunde spiegelt sich am ehesten in der Gesamtzeit wieder, i.e. in der Zeitdauer von der primären Hirnschädigung bis zum Abbruch der intensivmedizinischen Versorgung (A-C).

Eine Beeinflussung der Ausprägung morphologischer Veränderungen durch die Art der ursächlichen Hirnschädigung wird von einigen Autoren postuliert (Saposnik u. Muñoz 2008), von anderen nicht beobachtet (Ujihira et al. 1993). Obwohl die eigene Auswertung in der Regel keinen direkten Zusammenhang zwischen neuropathologischen Befunden und individuellen Faktoren wie Alter, Geschlecht oder der Zugehörigkeit zu bestimmten

Diagnosegruppen (Dg) aufzeigen konnte, erwiesen sich genannte Faktoren mittelbar als nicht unwesentlich mit zeitlichen Aspekten der Hirntoddiagnostik assoziiert: So konnte der Hirntod in Fällen einer primär neurotraumatischen Hirnschädigung oder nach intrazerebralen Blutungen (DgI) im Mittel bereits nach 63 Std. festgestellt werden, im Gegensatz zu Fällen eines primär ischämischen Ereignisses (DgII), in denen die klinische Hirntod-Diagnostik durchschnittlich erst nach 110 Std. stattfand. Die Zeit bis zur klinischen Feststellung des Hirntodes (Zeitintervall A-B) ist somit länger, wenn die ursächliche Hirnschädigung auf einem ischämischen Ereignis basiert (DgII). Frowein (1973) kam ebenfalls zu diesem Ergebnis, genauso wie Schröder (1983), der daraufhin die Fälle einer primären Ischämie aus seinen Untersuchungen ausschloss. Dieser Sachverhalt ist bemerkenswert, gilt die Ischämie doch als das schädigende Ereignis in Pathogenese des Hirntodes schlechthin. Ferner wurde der Tod eines männlichen Gehirns im Mittel 23 Std. später festgestellt als bei der Frau (81 Std. vs. 58 Std.), obwohl dem Hirntod bei Männern häufiger eine traumatische Ursache zugrunde lag (DgI=72%, DgII=24%), als bei Frauen (DgI=64%, DgII=28%). Des Weiteren nimmt nach eigener Auswertung die Überlebenszeit (A-B) kontinuierlich mit dem Alter ab. Hier muss eine eventuelle Beeinflussung der Hirndruckentwicklung durch Komorbidität diskutiert werden.

Die Entkoppelung des Irreversibilitätsnachweises von zeitlichen Kriterien (durch eine zusätzliche apparative Diagnostik) kann die Dauer bis zur Durchführung der Hirntoddiagnostik (A-B) nicht beeinflussen, jedoch wird die Zeit von erster Hirntod-Diagnose bis zur Beendigung maschinellen Kreislaufunterstützung verkürzt (B-C). Eine eventuell folgende Organtransplantation erfordert eine frühstmögliche Bestätigung des Hirntodes und führt daher womöglich zu einer vergleichsweise früheren Aufnahme der Diagnostik (A-B). Nach den vorliegenden Ergebnissen ist die Zeit bis zur Feststellung des Hirntodes jedoch vor allem abhängig von der Art der primären Hirnschädigung, wobei in eigenen Untersuchungen überraschender Weise keine gravierenden Unterschiede der morphologischen Veränderungen dargestellt werden konnten.

4.1.3 Vergleichbarkeit von Forschungsergebnissen verschiedener Studien

Je nach Patientengut können individuelle Faktoren, die Art der Primärschädigung und pathophysiologische Aspekte des Hirntodes differieren, was die Vergleichbarkeit von Studien erschwert (Powner et al. 2004). Die Anzahl an Traumata und intrazerebralen Blutungen wird in Unfall- und Neurotraumatischen Kliniken höher sein als auf der allgemein-internistischen

Intensivstation. Folglich variiert die Ausprägung morphologischer Befunde zweifelsohne je nach Krankenhaus und dessen Patientenzusammensetzung, allein aufgrund der im vorherigen Kapitel dargelegten zeitlichen Zusammenhänge des Hirntodverlaufs verschiedener Diagnosegruppen. Sicher sind auch klinikinterne Richtlinien bei der Feststellung des Hirntodes relevant. Es unterliegt dem behandelnden Arzt, die Hirntoddiagnostik zu einem subjektiv gewählten Zeitpunkt durchzuführen - möglichst mit der „Sicherheit“, dass der Hirntod bereits eingetreten ist. Allgemein verbindliche Richtlinien existieren in diesem Punkt nicht. Interhospitale Differenzen betreffen auch die Auswahl der Patienten, die überhaupt zur Hirntoddiagnostik zugelassen werden (Powner et al. 2004). Des Weiteren stehen technische Geräte für eine apparative Zusatzdiagnostik nicht in jeder Klinik zur Verfügung. Ohnehin sind Aussagekraft und Bewertung der zusätzlichen apparativ-diagnostischen Mittel nicht unwesentlich abhängig von der individuellen Erfahrung und Kompetenz des Untersuchers (Weber et al. 2008).

Erschwert wird die Vergleichbarkeit von Forschungsergebnissen verschiedener Studien einerseits durch betriebsinterne und individuelle Unterschiede, andererseits jedoch auch durch die Tatsache, dass die klinische Feststellung und Dokumentation des Hirntodes auf internationaler Ebene nicht standardisiert ist und weltweit keine einheitlichen Kriterien zum Nachweis des Hirntodes vorliegen (Unterharnscheidt 1993, Wijdicks 2002, Powner et al. 2004, Baron 2006, Greer 2008, Busl u. Greer 2009). Ob diese Diskrepanzen einen Einfluss auf differente pathomorphologische Auswertungen verschiedener Studien haben, ist weder bewiesen, noch ausgeschlossen.

4.1.4 Zeichen einer Volumenvermehrung und ischämische Nervenzellveränderungen

Nach Alter und Geschlecht klassifiziert war das durchschnittliche Nativgewicht der Gehirne des Hirntod-Kollektivs (n=98) im Vergleich zu Normgewichten anderer Studien (Sundermann u. Boerner 1949, Boyd 1962, Spann u. Dustmann 1965) in sämtlichen Fällen erhöht. Eine erste Zunahme des Hirngewichts fand innerhalb der ersten 48 Std. nach primärer Hirnschädigung statt, ein weiterer Anstieg ab 90 Std. postkausal auf Extremwerte (im Mittel über 1700g). Ein generalisiertes Hirnödem mit makroskopischen Druckzeichen (Nivellierung des Großhirnwindungsreliefs, Einengung des Kammersystems, Schnürfurchen der Unci sowie ein Druckkonus der Kleinhirntonsillen) konnte in nahezu 100% der Fälle (n=149) festgestellt werden - unabhängig von Alter, Geschlecht oder Ursache des Hirntodes (vgl. Tab. 4.2).

Zeitgleich mit eigenen Untersuchungen veröffentlichten Wijdicks u. Pfeifer (2008) ihre Auswertungen von 41 Fällen eines Hirntodes. Im Vergleich zu Kontrollgruppen beschreiben sie ebenfalls durchgehend eine Zunahme des Hirngewichts und makroskopisch sichtbare Druckmarken wurden regelmäßig beobachtet. Vierzig Jahre zuvor publizierten Schneider et al. (1969) ihre Untersuchungen anhand von zehn Hirntod-Fällen der Jahre 1965 bis 1968. Sie belegen ebenso eine Erhöhung des Hirngewichts und makroskopisch sichtbare Druckzeichen in sämtlichen Fällen. Auch andere Studien konnten genannte Kriterien in der Mehrzahl ihrer Fälle bestätigen (Masshoff 1968, Matakas et al. 1973, Pearson et al. 1978, Liudkovskaia u. Popova 1978, Unterharnscheidt 1993, Ujihira et al. 1993, Kehl u. Schlote 1993, Oehmichen 1994, vgl. Oehmichen et al. 2009a). Obwohl die Befunde in ihrer Ausprägung stark variieren konnten, lässt die morphologische Analyse des Hirntodes den zentralen pathogenetischen Mechanismus klar erkennen: Ätiologisch verschiedene intrakranielle Prozesse führen über eine „*eigengesetzlich progrediente*“ Zunahme des Hirnvolumens zu einem massiven Hirnödem (Schneider et al. 1969) mit intrakranieller Raumverdrängung, wobei die Dynamik der Hirndruckentwicklung im einzelnen Fall sehr verschieden und morphologische Druckzeichen dementsprechend mehr oder weniger ausgeprägt sein können (Masshoff 1968, Schneider et al. 1969, Schröder 1983).

Der gesteigerte intrakranielle Druck zieht eine Minderperfusion des Hirngewebes nach sich und führt im Extremfall zu einem globalen Stillstand der Hirnzirkulation (Unterharnscheidt 1993), wobei als Folge der zerebralen Ischämie im Sinne eines *circulus vitiosus* wiederum eine Verstärkung des Hirnödems und damit des Hirndrucks resultiert. Ischämie-bedingte Veränderungen der Nervenzellen sind daher zu erwarten - sie zeigten sich (nach Hämatoxylin- und Eosin- Färbung) jedoch von Fall zu Fall in sehr variabler Ausprägung und diffus über das gesamte Gehirn verteilt (Kehl u. Schlote 1993, Wijdicks u. Pfeifer 2008).

In der Literatur werden allgemein zwei morphologische Äquivalente einer hypoxisch-ischämischen Zellschädigung vorgestellt, die abhängig sind von einer - zumindest teilweisen - Reperfusion des involvierten Hirngewebes³⁴ (Pendl 1986). Ebenso können „*als autolytisch*

³⁴ Dabei wird im Falle einer globalen oder partiellen Reperfusion in HE-gefärbten Schnittpräparaten eine Eosinophilie im Zytoplasma von „geschrumpften“ Nervenzellen beschrieben („*dark nerve cell injury*“). Unter Nissl-Färbung zeigen die geschädigten Nervenzellen ein verdichtetes Zyto- und Karyoplasma und stark geblähte Mitochondrien, die perineuralen und perivaskulären Astrozytenfortsätze sind ödematös geschwollen. Genannte Veränderungen können nach 40 bis 60 Minuten oder innerhalb einiger Stunden beobachtet werden (Kalimo et al. 1982, Oehmichen u. Meissner 2006).

Ohne Reperfusion zeigt sich nach Nissl-Färbung eine Dilatation des Kernchromatins. Neuronale Schädigungen erscheinen diskret und werden auch als „blasse“ Nervenzellschädigung bezeichnet („*pale nerve cell injury*“). Neurone und Astrozyten zeigen ödematöse Veränderungen, sowie eine leichte Schwellung der Mitochondrien und des endoplasmatischen Retikulums. Der zytologische Nachweis dieser Nervenzellschädigung lässt sich frühestens nach 10-30 min., generell aber erst nach mehreren Stunden eines hypoxisch-ischämischen Geschehens erbringen (Kalimo et al. 1982, Oehmichen u. Meissner 2006).

aufzufassende Zellregressionen in unregelmäßiger Verteilung“ (Schröder 1983) festgestellt werden. Allerdings sind die histologischen Veränderungen nach Routinefärbung häufig weniger ausgeprägt, als es das makroskopische Bild vermuten ließe (Hughes 1978, Leestma 1984, Saposnik u. Muñoz 2008). Das morphologische Bild des Hirntodes reichte von der „totalen ischämischen Nekrose“ und einem „Nebeneinander von Volumenvermehrung und beginnendem Strukturzerfall“ bis hin zu Hirnbefunden, die weder makroskopische noch mikroskopische Auffälligkeiten boten (Masshoff 1968, vgl. Stratmann 1978, Pendl 1986). In der Untersuchung von Wijdicks u. Pfeifer (2008) konnte je nach Hirnregion ein Verlust von Nervenzellen in 34 bis 68% der Fälle festgestellt werden. Die Neurone der Hippokampusformation waren in 74% von ischämischen (eosinophilen) Veränderungen betroffen und wiesen somit die höchste Vulnerabilität auf, obgleich eine Schädigung nicht durchgängig festgestellt werden konnte. Die enorme Variabilität der Befunde ist zu groß, als dass die hypoxisch-ischämische Schädigung allein als valides und spezifisches Merkmal des Hirntodes gelten könnte (Kehl u. Schlote 1993, Wijdicks u. Pfeifer 2008, Saposnik u. Muñoz 2008). Die quantitativen Auswertungen eigener Untersuchungen anhand der ischämie-spezifischen immunhistochemischen Reaktion mit MAP2 (Mikrotubuli-assoziiertes Protein 2) werden in Kapitel 4.2 diskutiert.

4.1.5 Zur Pathomorphologie des Kleinhirns

Neben den nahezu durchgehend präsenten, jedoch eher unspezifischen Befunden eines Hirnödems und dem Vorliegen von Druckmarken, konnten anhand der pathomorphologischen Diagnostik in einer Vielzahl der Fälle präzisere Befunde erhoben werden, die das Vorliegen eines Hirntodsyndroms aus morphologischen Gesichtspunkten bekräftigen. Aufgrund der extremen Hirnschwellung waren in 76% der Fälle eigener Untersuchungen bereits makroskopisch sichtbare Nekrosen der Kleinhirntonsillen als Folge einer Herniation vorhanden. Fast ebenso häufig konnte makroskopisch eine „Abtropfung“ von nekrotischem Kleinhirngewebe in den Spinalkanal festgestellt werden. Durch die mikroskopische Diagnostik konnte dieses Kriterium in etwa 80% der Fälle gesichert werden.

Eine Nekrose von Hirngewebe, speziell der Kleinhirntonsillen, wurde bereits von Schneider et al. (1969) als bezeichnend und beweisend für das Vorliegen eines Hirntodes formuliert. Das Hirnorgan ist hier bereits in Auflösung befindlich und eindeutig irreversibel geschädigt. Die Volumenvermehrung und die resultierende massive und anhaltende intrakranielle Drucksteigerung führen zur Verlagerung von Hirngewebe in Richtung des geringsten

Widerstandes, so dass Anteile des Kleinhirns durchaus über das Foramen magnum bis in tiefergelegene Abschnitte des Spinalkanals „abtropfen“ können (Masshoff 1968, Käufer 1971, Matakas et al. 1973, Sayer et al. 1981, Unterharnscheidt 1993, Oehmichen 1994). Die aktuellen Befunde von Wijdicks und Pfeifer (2008) waren im Vergleich zu den Eigenen deutlich geringerer Ausprägung: Ischämische Zellverluste fanden sich in etwa der Hälfte der Fälle, eine Autolyse des Kleinhirngewebes jedoch lediglich in etwa 15%. Ein Zerfall bzw. eine Abtropfung des Gewebes in den Halswirbelkanal wurde nicht gesondert registriert. In einer durchaus kritikwürdigen Studie (vgl. Fußnote 42) stellten Walker et al. (1978) in über 80% ihrer Fälle (n=226) eine Schädigung des Hirngewebes fest, eine Kleinhirn-Abtropfung in 10%. Weitere Studien geben autolytische Veränderungen in 45% (n=190, Schröder 1983) bis 100% (n=101, Ujihira et al. 1993) ihrer Fälle an. Liquorzytologische Untersuchungen von Sayer et al. (1981) konnten in 4 von 5 Hirntod-Fällen ein Vorkommen von Nervenzellen (v.a. Purkinje-Zellen) innerhalb des Spinalkanals aufzeigen. Zusammenfassend muss festgestellt werden, dass trotz der in früheren Studien und innerhalb des aktuellen eigenen Fallmaterials regelmäßig anzutreffenden massiven Kleinhirnschädigung in Fällen eines Hirntodes dieser Befund vor dem Hintergrund des Studienvergleichs zwar spezifisch, jedoch nicht in allen Fällen eines Hirntodes vorlag.

In den weichen Rückenmarkshäuten fand in eigenen Untersuchungen regelmäßig eine hämatogene Reaktion auf das nekrotische Material statt, wobei Granulozyten in über 90% und zusätzlich Makrophagen in 65% der Fälle festgestellt werden konnten - ein Phänomen, das in keinem der Kontrollfälle zu beobachten war.

4.1.6 Morphologische Veränderungen innerhalb der Grenzregionen (Demarkation)

Feingewebliche Untersuchungen verschiedener Studien (Schneider et al. 1969, McCormick u. Halmi 1970, Liudkovskaia u. Popova 1978, Ujihira et al. 1993) konnten in der *Hypophyse* in nahezu sämtlichen Fällen Gewebeschäden feststellen. Größtenteils lagen schwerste autolytische oder nekrotische Schädigungen vor. Blutungen waren in über der Hälfte der Fälle vorhanden. Die eigene mikroskopische Untersuchung bestätigte Nekrosen der Hypophyse ebenfalls in sämtlichen Fällen. In über 70% fanden sich zusätzlich Blutungen. Tatsächlich ist die Hypophyse bei einer intrazerebralen Druckentwicklung in mehrfacher Hinsicht gefährdet

(vgl. Schneider et al. 1969, Käufer 1971)³⁵. Durch Wijdicks u. Pfeifer (2008) konnten Blutungen oder Nekrosen der Hypophyse dagegen nur in 45% der Fälle vermerkt werden.

In 75% der eigenen Fälle konnten Nekrosen oder druckbedingte Blutungen im Verlauf des *N. opticus* und in 60% der Fälle innerhalb der oberen **Halsmarksegmente** ermittelt werden. Andere Untersuchungen stellten hämorrhagische Erweichungen bzw. Nekrosen der oberen Zervikalsegmente in 73% (Schneider u. Matakas 1971) oder sogar in sämtlichen Fällen fest (Schröder 1983, Chiappa 1990, Machado et al. 1993, Machado u. Korein 2008).

Die unterschiedliche Inzidenz einer Nekrose innerhalb der Grenzzonen findet sich bei der Auswertung einer Emigration von Granulozyten in das jeweilige Parenchym erneut: Im **Halsmark** waren Leukozyten (neutrophile Granulozyten) in 60% der Fälle vorhanden, innerhalb des *N. opticus* in 80% und innerhalb der **Hypophyse** sogar in 95% der Fälle eines klinisch diagnostizierten Hirntodes. Im Sinne einer Abstoßungsreaktion weisen genannte Befunde auf bereits nekrotisch verändertes Hirngewebe (Schneider u. Matakas 1971, Liudkovskaia u. Popova 1978) bei einem noch bestehenden Körperkreislauf hin (Masshoff 1968). Makrophagen waren innerhalb der Grenzregionen, vor allem innerhalb der Hypophyse, weniger stark vertreten. Lediglich in 43% emigrierten sie in das Parenchym des Halsmarks, nur in 30% der Fälle wurden sie in der Hypophyse aufgefunden.

Vor allem innerhalb der Hypophyse (s.o.) und des *N. opticus* konnten in eigenen Untersuchungen nekrotische und reaktive Veränderungen festgestellt werden, während diese im Parenchym des Halsmarks deutlich seltener vorkamen. Die A. carotis interna scheint gegenüber einer intrakraniellen Volumenzunahme durch ihren Verlauf innerhalb der Cisterna chiasmatica besonders vulnerabel, wobei vor allem der Abgang der Hypophysenarterien und der A. optalmica superior gefährdet zu sein scheinen. Die Perfusion des Halsmarks über die A. vertebralis scheint - im Vergleich zu derjenigen der A. carotis interna - zu einem späteren Zeitpunkt zu versagen (Bücheler et al. 1973). Außerdem dürfte die intrakranielle Druckentwicklung eine Rolle spielen, die sich meist (je nach primärer Hirnschädigung) von rostral nach kaudal entwickelt. Das Halsmark würde demnach erst später geschädigt werden.

³⁵ Aufgrund der exponierten Lage der Hypophyse innerhalb der Cisterna chiasmatica und der Fixierung innerhalb der Sella erweist sich diese Hirnstruktur gegenüber einer intrakraniellen Volumenvermehrung als extrem vulnerabel. Außerdem ist die Versorgung über intrakranielle Gefäße durch deren Verlauf entlang und innerhalb des Hypophysenstils gefährdet. Hier sind die unteren Hypophysenarterien einem steigenden Hirndruck weniger ausgesetzt, da sie ihren Ursprung aus der A. carotis interna vor deren Eintritt in die Cisterna chiasmatica nehmen. Massenverschiebungen sind für die Ausbildung einer Hypophysennekrose somit nicht zwingend erforderlich (Schneider et al. 1969).

4.1.7 Weitere Befunde geringerer Spezifität und Häufigkeit

Nekrosen und druckbedingte Blutungen der Brücke zeigten sich in vorliegenden Untersuchungen häufig (70%) - sie sind jedoch weniger spezifisch, da von äußeren Faktoren abhängig. Sie wurden seltener unter Ischämie-Fällen als nach Traumata oder Intoxikationen (58% vs. 75 bzw. 88%) und seltener bei weiblichem Geschlecht beobachtet. Eine tierexperimentelle Studie (Matakas et al. 1973) konnte nach einer 20-minütigen zerebralen Ischämie dagegen in allen Fällen hämorrhagische Erweichungen der Brücke nachweisen.

Eine Verlagerung der Mittellinie war in weniger als der Hälfte aller Fälle vorhanden. Sie fand sich nahezu ausschließlich in der Diagnosegruppe I (DgI: intrakranielle Blutung/Trauma, 66% vs. 8%/0% in den DgII/III, $p=0,000$) und außerdem - da Männer häufiger in Unfälle und Traumata verwickelt sind als Frauen - häufiger beim männlichen Geschlecht ($p=0,01$).

Nur in 15% der Fälle ($n=141$) wurde ein hämorrhagischer Infarkt des Okzipitallappens als Folge einer supratentoriellen Raumforderung mit Kompression der A. cerebro occipitalis festgestellt, wobei der Befund unter Ischämie- und Intoxikations-bedingten Hirntodesfällen (DgII/III) doppelt so häufig vorkam wie in Fällen einer intrazerebralen Blutung bzw. eines Traumas (22/25% vs. 12%).

Weitere makroskopische Befunde der oberen Zervikalsegmente gestalteten sich unspezifisch und zeigten teilweise starke Assoziationen zu individuellen und äußeren Einflussfaktoren: Blutungen innerhalb der Rückenmarkshäute waren in nur 45% der Fälle vorhanden, häufiger nach Trauma (DgI) und häufiger bei männlichem Geschlecht. Lokale, druckbedingte Blutungen oder Nekrosen innerhalb des Parenchyms konnten in etwa der Hälfte (53%) aller Hirntodesfälle ($n=88$) festgestellt werden, häufiger nach ischämischen Ereignissen (DgII: 69%;). Nach mikroskopischer Diagnostik lag die Häufigkeit bei insgesamt 60% ($n=49$).

4.2 MAP2-Expressionsverlust als neuronaler Indikator einer zerebralen Ischämie

4.2.1 Neuronale Expression von MAP2 als diagnostischer Marker des Hirntodes?

Die Ursachen eines Hirntodsyndroms sind vielfältig, zugrunde liegende pathophysiologische und biochemische Vorgänge somit individuell verschieden und nicht standardisierbar. Eine globale zerebrale Ischämie gilt jedoch als die gemeinsame pathophysiologische Grundlage eines Hirntodes - auch nach primär traumatischen Läsionen oder Intoxikationen. Sie tritt

entweder im Sinne einer primären globalen Ischämie oder im Zuge einer zerebralen Minderperfusion durch eine intrakranielle Drucksteigerung auf (vgl. Kap. 1.5.2). Vor dem Hintergrund der Variabilität pathomorphologischer Befunde in Fällen eines Hirntodes sollte daher in vorliegender Arbeit die Ausprägung ischämischer Zellveränderungen gezielt durch den speziellen immunhistochemischen Nachweis des MAP2-Antigens untersucht werden. Anatomische Grundlage bildete in vorliegenden Studien die Ammonshornformation, die gegenüber Sauerstoffmangel (DeJong et al. 1969, Zola-Morgan et al. 1986, Auer et al. 1989, Ota et al. 1997) sowie traumatischen Hirnverletzungen (Huh et al. 2003) und einer intrakraniellen Drucksteigerung (Oehmichen et al. 2009a) eine hohe Vulnerabilität aufweist. In Fällen eines Hirntodes wäre somit eine massive Schädigung dieser anatomischen Struktur zu erwarten. Es stellt sich die Frage, ob eine fehlende Expression von neuronalem MAP2 als ein sicheres Hirntod-Kriterium - vor allem auch der frühen morphologischen Diagnostik - gelten kann.

Veränderungen der Immunreaktivität des MAP2 nach ischämischen Schädigungen des Gehirns konnten in vielfältigen Studien aufgezeigt werden und kennzeichnen das zytoskelettale Protein MAP2 als frühen und hoch sensitiven Marker einer zellulären/subzellulären Reaktion auf eine ischämische Hirnschädigung (Kitagawa et al. 1989, Yanagihara et al. 1990, Kwei et al. 1993, Raley-Susman u. Murata 1995, Malinak u. Silverstein 1996, Ota et al. 1997, Schmidt-Kastner et al. 1998, Bonde et al. 2002, Qi et al. 2004, Kühn et al. 2005, Noto et al. 2007, Lingwood et al. 2008; vgl. Kap. 1.6). Sie wurden sowohl nach Reperfusion (Geddes et al. 1994, Vanicky et al. 1995, Oehmichen et al. 2000, Lingwood et al. 2008), als auch bei permanenter Ischämie ohne Reperfusion (Yamamoto et al. 1986, Yanagihara et al. 1990, Dawson u. Hallenbeck 1996, Qi et al. 2004, Kühn et al. 2005) beschrieben. Auch der über längere Zeit bestehende Hirntod schließt eine transiente, partielle Reperfusion offenbar nicht sicher aus (Pearson et al. 1977, Schröder 1983). Vielmehr sind die Folgen der globalen Ischämie immer von der Dauer des intrakraniellen Kreislaufstillstandes abhängig (Oehmichen et al. 2009a), nach spätestens 10 bis 15 Min. sind die Nervenzellen im Ischämiegebiet bereits irreversibel geschädigt und eine Revitalisierung des Gewebes ist - unabhängig von einer möglichen Reperfusion des Hirngewebes - ausgeschlossen. Die Abnahme der Immunreaktivität des MAP2 kann das Ausmaß einer ischämischen bzw. traumatischen Hirnläsion anzeigen, wobei nicht nur das Zentrum der ischämischen Schädigung, sondern auch die umgebende periläsionale Zone der Penumbra betroffen ist (Dawson u. Hallenbeck 1996, Popp et al. 2009).

In den eigenen Fällen eines klinisch diagnostizierten Hirntodes konnte im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv (Akutversterben) gemäß unseren Erwartungen ein signifikanter Verlust der MAP2-Expression in sämtlichen Regionen des Ammonshorns nachgewiesen werden ($p=0,000$ bis $p=0,001$, siehe Kap. 3.3.3). Den vier Regionen der Ammonshornformation wird eine differente Vulnerabilität zugewiesen, und unterschiedliche pathophysiologische Vorgänge innerhalb verschiedener CA-Regionen werden diskutiert. So wird der Verlust MAP2-positiver Nervenzellen in der **CA4-Region** des Ammonshorns in der Regel frühzeitig nach schwerer Ischämie (Kirino u. Sano 1984, Auer u. Siesjo 1988, Tomimoto u. Yanagihara 2000, Kühn et al. 2005, Oehmichen et al. 2009c, Wötzel 2009) und schweren traumatischen Hirnläsionen (Grady et al. 2003) beobachtet. Auch die **CA2-Region** reagiert frühzeitig auf schwere ischämische Veränderungen (Kirino u. Sano 1984, Kitagawa et al. 1989, Yanagihara et al. 1990, Tomimoto u. Yanagihara 2000, Wötzel 2009).

Dem **CA3-Segment** des Ammonshorns wird eine relative Stabilität gegenüber Sauerstoffmangel zugesprochen (Kirino u. Sano 1984, Kitagawa et al. 1989, Ota et al. 1997, Bernaudin et al. 1998, Tomimoto u. Yanagihara 2000, Kühn et al. 2005). Diese Stabilität beruht offenbar auf einer geringeren Aktivität von NMDA-Rezeptoren innerhalb der CA3-Region (Grishin et al. 2004, 2005, Cronberg et al. 2005, Gee et al. 2006, Benquet et al. 2008), die auf einer Kalzium(Ca^{2+})-abhängigen Depression der NMDA-Rezeptoren durch Aktivierung G_q -Protein-gekoppelter metabotropher Glutamat-Rezeptoren (z.B. Muskarin-Rezeptoren) beruht. Der intrazelluläre Ca^{2+} -Einstrom über NMDA-Rezeptoren aktiviert unter anderem verschiedene Ca^{2+} -abhängige Phosphatasen und Calmodulin, die wiederum eine Hemmung der NMDA-Rezeptoren zur Folge haben (negative Rückkopplung, Kotecha et al. 2003, Kotecha u. MacDonald 2003).

Im Gegensatz zur relativen Stabilität der **CA3-Region** gilt die **CA1-Region** als deutlich vulnerabler (Strassner u. Fischer 1995). Die Nervenzellen reagieren hier extrem empfindlich auf diskrete ischämische Veränderungen. Unter experimentellen Bedingungen wurden Schädigungen der CA1-Neurone postischämisch bereits ab zwei (Smith et al. 1984) bis fünf Minuten (Yanagihara et al. 1990) nachgewiesen. Dagegen stellten andere Untersuchungen eine Verminderung der MAP2-Expression erst nach 3 bis sieben Tagen fest (Tomioka et al. 1992). Die Konzentration von NMDA-Rezeptoren in der CA1-Region ist hoch (Greenamyre et al. 1985). Die oben beschriebene Aktivierung metabotropher Glutamat-Rezeptoren führt hier nicht wie in CA3 zu einer Depression, sondern zu einer Potenzierung der NMDA-Antwort über eine Aktivierung von Protein-Tyrosin-Kinasen (Markram u. Segal 1990, Ali u. Salter 2001, Kotecha u. MacDonald 2003, Grishin et al. 2004). Bonde et al. (2005) stellten in

hippokampalen Zellkulturen nach 30-minütiger, transientscher Ischämie (Entzug von O₂ und Glukose) ebenfalls die selektive und im Vergleich zu anderen CA-Regionen deutlich höhere Vulnerabilität der CA1-Region fest. Sie vermuteten dabei eine vermehrte Freisetzung von Glutamat in den extrazellulären Raum und konnten den Einfluss von ionotropen Glutamatrezeptoren und Glutamatttransportern auf den neuronalen Zelluntergang nachweisen - wobei in ihren Untersuchungen vor allem ein Zelltod durch Nekrose, nicht jedoch durch apoptotische Vorgänge, festgestellt werden konnte.

Welcher Signalweg nach Aktivierung metabotropher Rezeptoren nun eingeschlagen wird, ist wahrscheinlich abhängig von der intrazellulären Ca²⁺-Mobilisation: Eine geringe Erhöhung des intrazellulären Ca²⁺ führt über die Aktivierung von Tyrosin-Kinasen zur Verstärkung und ein extrem hoher Ca²⁺-Anstieg über Aktivierung von Calcineurin (Paul et al. 2003) und Tyrosin-Phosphatasen zur Depression der NMDA-Antwort. Den Neuronen der CA1-Region wird unter anderem ein hohes endogenes Potential zur Pufferung intrazellulären freien Ca²⁺ zugesprochen (Grishin et al. 2004), was die Aktivierung der potenzierenden Kinasen begünstigt. Dies könnte die selektive Vulnerabilität der CA1-Neurone bezüglich exzitotoxischen Zellschädigungen nach ischämischen Veränderungen erklären, während der exzessive Ca²⁺-Anstieg in der CA3-Region über die verminderte NMDA-Rezeptoraktivität neuroprotektiv („relativ stabil“ gegenüber Ischämie) wirkt.

Da die Nervenzellläsionen im CA1-Segment häufig erst spät (nach 2 bis 4 Tagen) festgestellt werden („Maturation“), hat sich der Ausdruck „verzögerter Zelltod“ oder „*delayed neuronal death*“ etabliert (Ito et al. 1975, Kalimo et al. 1982, Kirino 1982). Dieser selektive, verzögerte Zelltod grenzt sich damit vom schnellen (Min.-Std.) neuronalen und glösen Zelltod im Sinne einer Pannekrose ab.

Die Vorgänge des verzögerten Zelltodes sind bis heute nur teilweise verstanden, wobei ein wesentlicher Aspekt die Aktivierung genetischer Programme zu sein scheint (Yang u. Korsmeyer 1996, Ferrer u. Planas 2003, Niizuma et al. 2009). Es erfolgt ein „programmierter Zelltod“ (Apoptose) mit morphologischen Befunden, wie Membran-Blebbing, Chromatinkondensation, geschrumpftes Zytoplasma und apoptotischen Körperchen, die phagozytiert werden (Nitatori et al. 1995, vgl. Dirnagl u. Meisel 1999). Nur wenige Studien beschreiben einen verzögerten Zelltod durch nekrotische Veränderungen (Jørgensen 1993). Untersuchungen zufolge sind reaktive Sauerstoffmetaboliten als wesentliche Mediatoren apoptotischer Zellveränderungen anzusehen. Sie können bei der Ischämie sowohl durch Reperfusion und Reoxygenierung, als auch durch exzitotoxische Stimuli entstehen und

induzieren - wahrscheinlich dosisabhängig - die neuronale Degeneration.

In-vitro-Modelle der Exzitotoxizität zeigten nekrotische Veränderungen der Neurone bei hohen Konzentrationen eines exzitotoxischen Neurotransmitters, während eine niedrige Konzentration zur Apoptose der Neurone führte (Ankarcrona et al. 1995, Bonfoco et al. 1995). Es wurden verschiedene Signalkaskaden beschrieben, die nach Reperfusion eines ischämisch geschädigten Gehirns die Apoptose von Neuronen einleiten können (vgl. Kempinski 2005, Oehmichen et al. 2009a, Zhang et al. 2009). Außerdem werden Veränderungen der mitochondrialen Genexpression mit Versagen der mitochondrialen Energiebereitstellung für einen verzögerten Zelltod diskutiert (Abe et al. 1995, Plesnila 2004, Kempinski 2005). Der verzögerte Zelltod mit Zeichen der Apoptose kann sowohl bei transienter, als auch bei permanenter Ischämie und sowohl in der Penumbra einer fokalen, als auch im Hirngewebe der globalen Ischämie gefunden werden (Linnik et al. 1993, MacManus et al. 1993, Okamoto et al. 1993, Li et al. 1993). Neben ischämischen Hirnschädigungen sind apoptotische Veränderungen der Neurone pathophysiologisch auch bei Neurotraumata zu beobachten (vgl. Kempinski 2005). Vor allem unter bestimmten Neuronpopulationen, wie denen der CA1-Region des Ammonshorns, ist ein verzögerter Zelltod anzutreffen (Dirnagl u. Meisel 1999, Abe et al. 1995).

In den Hirntod-Fällen der eigenen Studie konnte eine signifikant geringere Expression des MAP2 in der CA1-Region im Vergleich zu anderen Regionen des Ammonshorns festgestellt werden ($p=0$ bis $p=0,004$, vgl. Kap. 3.3.2). Demgegenüber unterschieden sich die CA2, CA3- und CA4-Regionen nicht signifikant voneinander. Im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv (Akutversterben) war - als morphologisches Korrelat einer ischämischen Hirnschädigung - eine signifikante Mindereexpression von MAP2 in sämtlichen CA-Regionen zu beobachten. Die selektive Vulnerabilität vor allem der CA1-Region des Ammonshorns konnte somit durch eigene Untersuchungen bestätigt werden. Aufgrund des breiten Schädigungsmusters, das sich über die gesamte Ammonshornformation erstreckt, sind differente pathophysiologische und biochemische Vorgänge anzunehmen, die sowohl frühe als auch verzögerte neuronale Zellschäden begründen.

Erstaunlich war demgegenüber, dass in vielen Fällen trotz der massiven Hirnschädigung und länger andauernder Ischämie *MAP2-exprimierende Neurone* - wenn auch in einem sehr geringen Prozentsatz - nachgewiesen werden konnten. Auffallend sind zudem drei

Sonderfälle³⁶, die eine Häufigkeit MAP2-positiver Neurone ähnlich derer der Kontrollgruppe aufwiesen. Bezüglich anamnestischer und zeitabhängiger Faktoren konnten dabei keine Unterschiede im Vergleich zu anderen Hirntodesfällen beobachtet werden: Ein Hirnödem war stets, teilweise in extremer Ausprägung, vorhanden. In allen Sonderfällen wurde eine traumatische Subduralblutung als primäre und ursächliche Hirnschädigung beschrieben. Eine Demarkation des Hirngewebes durch emigrierte Entzündungszellen konnte in den Grenzzonen stets festgestellt werden, wodurch unter anderem ein intrakranieller Kreislaufstillstand mit Sicherheit nachgewiesen werden konnte. Der Hirntod wurde klinisch einwandfrei diagnostiziert und dokumentiert. Die Zeit bis zur Hirntod-Diagnose (A-B) betrug etwa 1 bis 3 Tage (24 bis 96 Std.), das gesamte Zeitintervall bis zur Beendigung der Beatmung (A-C) etwa 2 bis 4 Tage (45 bis 114 Std.).

Studien, die nach transienter bzw. permanenter Ischämie von einer weiterhin bestehenden - oder im Verlauf wieder zunehmenden - MAP2-Immunogenität berichten, diskutieren eine vermehrte neuronale Anfärbbarkeit (Geddes et al. 1994) abhängig von dem Phosphorylierungs-Grad des MAP2 (vgl. Halpain u. Greengard 1990, Tomimoto u. Yanagiara 1992) sowie eine neuronale Induktion und Expressionssteigerung von MAP2 als Antwort auf ischämische Veränderungen, wie z.B. auf einen Anstieg von Stickstoff (NO) im Gewebe (Johnston u. Morris 1994, Dawson u. Hallenbeck 1996). Letztendlich ist der Grund dieser postischämisch nachweisbaren MAP2-Immunreaktivität ungeklärt (vgl. Kap. 4.2.3).

Eine protektive Wirkung durch Hypothermie (Miyazawa et al. 1993, Eguchi et al. 1997, Kitamura et al. 2005) kann in den vorliegenden Sonderfällen ausgeschlossen werden. Ebenso können Fehler in der Materialverarbeitung und immunozytochemischen Anfärbung ausgeschlossen werden. Die Präparate entstammen verschiedenen Färbedurchläufen, wobei sich die jeweiligen Kontrollschnitte regelrecht anfärben ließen. In vorliegenden Sonderfällen war keine astrozytäre Immunreaktion des MAP2 feststellbar (vgl. Kap. 4.4.2). Bei der zeitlichen Zuordnung werden ebenfalls keine Besonderheiten auffällig, die Fälle liegen in verschiedenen Zeitgruppen im Mittelfeld (siehe oben).

Folglich muss festgestellt werden, dass auch nach Anwendung dieser speziellen immunhistochemischen Reaktion der Tod des Gehirns in Einzelfällen nicht fassbar ist.

³⁶ Eine Kasuistik dieser Sonderfälle findet sich in Kapitel 3.3.4.

Bei Betrachtung der MAP2-Expression innerhalb des **Kontrollkollektivs** (Akutversterben) wird eine hohe Variabilität der Befunde augenscheinlich, wobei Verluste der MAP2-Anfärbbarkeit in verschiedenen Regionen der Ammonshornformation nachgewiesen werden konnten. Selten wurde ein totaler Sektorausfall beobachtet. Im Gegensatz zum Hirntodkollektiv traten die Sektorausfälle unter den Kontrollfällen nie segmentübergreifend auf, d.h. in keinem Kontrollfall waren alle Neurone sämtlicher CA-Regionen MAP2-negativ. Die Variabilität der MAP2-Darstellung erklärt sich aus der unterschiedlichen Zeitdauer der Agonie³⁷, die auch in Fällen eines „Akutversterbens“ vorhanden ist. Bisher ist die Phase der Agonie mit wissenschaftlichen Methoden kaum fassbar und erst recht nicht quantifizierbar, sie entzieht sich somit einer exakten Beurteilbarkeit. Die in vorliegenden Kontrollfällen teilweise ausgeprägte Expression von MAP2 ist überraschend und bemerkenswert, da auch während agonomer Phasen hypoxische und ischämische Prozesse stattfinden.

4.2.2 MAP2-Expression in Astrozyten

Die Funktionen der Astrozyten sind vielfältig. Neben Stützfunktionen kontrollieren sie die Zusammensetzung der Extrazellulärflüssigkeit durch diverse Transportmechanismen und Ionenkanäle (vgl. Lüllmann-Rauch 2003, Oehmichen et al. 2009a). So sind sie u.a. an der Aufnahme von Neurotransmittern beteiligt und garantieren die Konstanzhaltung der extrazellulären Elektrolyte, vor allem der K^+ -Konzentration, die durch die Aktivität der Neurone anzusteigen droht. Untereinander sind sie durch tight junctions eng verknüpft. Unter besonderen Bedingungen können Astrozyten als Antigen-präsentierende Zellen fungieren (vgl. Pannese 1994) und somit Entzündungsvorgänge des Hirngewebes aktiv beeinflussen (Dietrich et al. 2003). Des Weiteren sind Astrozyten mit ihren „Endfüßen“ (Gliagrenzmembran) von entscheidender Bedeutung für die Ausbildung und Erhaltung der Blut-Hirn-Schranke, indem sie spezifische Barriere-Eigenschaften des Kapillarendothels induzieren oder modifizieren. Bei einer Schädigung des Nervengewebes - ischämischer oder traumatischer Genese - entwickeln sich ruhende Astrozyten durch eine Vielzahl von intra- und extrazellulären Faktoren zu „reaktiven Astrozyten“. Sie proliferieren mitotisch, nehmen aufgrund einer Schwellung an Größe zu und steigern ihren Glykogengehalt sowie die Anzahl ihrer Intermediärfilamente (Klatzo et al. 1961). Sie exprimieren vermehrt ein saures

³⁷ Unter Agonie wird die Zeit vor Eintritt des Todes bezeichnet („Todeskampf“), die das allmähliche Erlöschen der Nerventätigkeit anzeigt. Der Begriff ist unpräzise, die Erscheinungen der Agonie gestalten sich unterschiedlich und können sich von wenigen Minuten bis hin zu mehreren Stunden erstrecken, wobei ischämische Vorgänge durch Verminderung der Atemaktivität (Reduktion der Sauerstoffsättigung des Blutes) und der Perfusion des Gehirns von Bedeutung sind.

Gliafaserprotein (GFAP), ein für Astrozyten typisches Intermediärfilament-Protein mit einer molekularen Masse von 50 kDa. Neben wichtigen Aufgaben in der Ausbildung der astrozytären Morphologie und Motilität ist GFAP bei der Ausbildung einer sogenannten Glianarbe nach ZNS-Läsionen beteiligt. Die Expression von GFAP wird dabei verstärkt induziert (vgl. Pannese 1994, Eng et al. 2000).

Neben einer Zunahme von Intermediärfilamenten konnten Geisert et al. (1990) in reaktiven Astrozyten 10 Tage posttraumatisch außerdem eine gesteigerte Expression von MAP2 nachweisen³⁸. Eine Astrozytose durch Einwanderung und/oder Proliferation reaktiver Astrozyten in bestimmte Hirnareale wurde bereits früh nach moderater Ischämie festgestellt, besonders in den Ammonshornregionen 3 und 4 (Kubo et al. 1998).

Unter den von uns untersuchten Hirntod-Fällen (n=27) konnte in 18,5% eine Darstellung der MAP2-Expression durch Astrozyten verzeichnet werden (vgl. Kap. 3.3.5). Diese fanden sich hauptsächlich in den Regionen CA4 bis CA2, wobei die neuronale MAP2-Expression in diesen Fällen nur schwach bis gar nicht vorhanden war. Auch in einigen Kontrollfällen konnten MAP2-positive Astrozyten beobachtet werden - jeweils assoziiert mit einer auffallend geringen neuronalen Expression von MAP2.

Ursache und Auswirkungen einer MAP2-positiven Astroglie sind nicht vollständig geklärt, es wurden sowohl Neuronen-unterstützende und protektive Funktionen beschrieben, als auch schädigende Einflüsse der Astrozyten. So wird z.B. der verzögerte Zelltod (siehe oben) mit der postischämischen MAP2-positiven Astrozytose assoziiert (Wang et al. 2007). Nach Untersuchungen von van Landeghem et al. (2006) ist die Wiederaufnahme des exzitatorischen Neurotransmitters Glutamat trotz erhöhter Anzahl der reaktiven Astrozyten posttraumatisch eingeschränkt. Es resultiert die extrazelluläre Anhäufung dieses potentiell neurotoxischen Transmitters (s.o.) mit der Folge einer astrozytären Degeneration. Die Neurone könnten zu diesem Zeitpunkt bereits geschädigt sein, was ihre fehlende Anfärbbarkeit erklären würde. Nach Wang et al. (2009) beruht der irreversible astrozytäre Zelltod nach Ischämie unter anderem auf dem Anstieg radikaler Sauerstoffmetabolite und mitochondrialer, proapoptotischer Proteine. Generell scheinen Astrozyten zunächst weniger vulnerabel gegenüber ischämischen Veränderungen zu sein als Nervenzellen (Strassner u. Fisher 1995, Pardo u. Honegger 1999), wobei der reaktiven Astroglie ein empfindliches Gleichgewicht zwischen Überlebens- (z.B. IL-8) und proapoptotischer (z.B. IFN γ) Faktoren zugrunde liegt (Dietrich et al. 2003).

³⁸ Auch in „nicht reaktiven“ Astrozyten konnte (geringer Ausprägung) MAP2 nachgewiesen werden (Vaughn u. Pease 1970, Couchie et al. 1985).

Papasozomenos u. Binder (1986) vermuteten, dass eine Hochregulierung von MAP2 als Reaktion auf eine mechanische Schädigung der Astrozyten induziert wird, um eine erhöhte Stabilität der Zellen zu gewährleisten. Eine nach Hirnschädigungen vermehrte Expression von MAP2 in Astrozyten konnten auch Lin u. Matesic (1994) nachweisen: Sie vermuten in der Expression dieses „neuronalen“ Markers (MAP2) eine Re-Expression fetaler Proteine im Sinne einer frühen Differenzierung zwischen Gliazellen und Neuronen. Tatsächlich erfüllen Astrozyten in der Regulation der Neurogenese wichtige Funktionen (vgl. Küper 2008). Außerdem sind sie direkt an der Neurogenese beteiligt, indem sie in vivo neurale Vorläuferzellen bilden können, die sich schließlich zu Neuronen differenzieren (Doetsch et al. 1999). Ebenso belegen Studien von Seri et al. (2001), dass sich hippocampale Astrozyten neugeborener Säugetiere in vivo zu Neuronen differenzieren können. Dass dies jedoch die vermehrte Expression von MAP2 in Astrozyten vorliegender Hirntodfälle bedingt ist eher unwahrscheinlich. Eine Erklärung der erhöhten MAP2-Reagibilität von Astrozyten könnte unter anderem auch darin bestehen, dass diese durch ihre Fähigkeit zur Phagozytose (vgl. al-Ali und al-Hussain 1996, Magnus et al. 2002) und Antigen-Präsentation das MAP2 mit der intrazellulären Aufnahme von nekrotisch veränderten Neuronen bzw. freigesetzten Proteinen aufnehmen und über intrazellulären Proteintransport als Antigen nach extrazellulär transferieren.

Letztendlich kann über die Ursache der astrozytären Mehrexpression von MAP2 nur spekuliert werden. Eine primär protektive Funktion ist nicht auszuschließen. Durch das relativ frühe Vorkommen der MAP2-positiven Astrozyten 48 bis 72 Std. postkausal bei gleichzeitiger Mindereexpression des neuronalen MAP2 ist eine protektive, unterstützende Funktion - gerade im Hinblick auf die fehlende MAP2-Expression nach längerem postischämischen bzw. posttraumatischem Intervall (über 90 Std.) in sämtlichen Zellen der Ammonshornregion (Neurone und Astrozyten) - fraglich bzw. innerhalb vorliegender Hirntodfälle unwahrscheinlich.³⁹

4.2.3 MAP2-Expression in Abhängigkeit von der Zeit

In experimentellen Untersuchungen wird eine primäre Ischämie von den Versuchstieren jeweils eine definierte Zeitdauer überlebt. Neben der direkten neuronalen Schädigung durch die Ischämie scheint diese postischämische „Überlebenszeit“ die Intensität der MAP2-

³⁹ Die maximal vermehrte Expression von GFAP in reaktiven Astrozyten nach Traumata wurde ebenfalls nach 2,5 bis 3 Tagen festgestellt (Janeczko 1989, Miyake et al. 1992). Primär ist in der CA3-Region des Ammonshorns bereits ab 30 Min. bis 4 Std. posttraumatisch ein GFAP-Verlust zu verzeichnen (Zhao et al. 2003, Oehmichen et al. 2009a).

Expression zu beeinflussen. Einigen Untersuchungen zufolge soll die neuronale Zellschädigung durch eine postischämische Reperfusion verstärkt bzw. überhaupt erst morphologisch sichtbar werden, besonders hinsichtlich des verzögerten neuronalen Todes der CA1-Region. Mit fortschreitender Überlebenszeit nach transienter Ischämie konnte eine zunehmende Nervenzellschädigung mit Verlust der MAP2-Reaktivität festgestellt werden (Yamamoto et al. 1986, Yanagihara et al. 1990, Tomimoto u. Yanagihara 1992, Tomioka et al. 1992, Geddes et al. 1994, Xia et al. 1999). Akulinin u. Dahlstrom (2003) konnten dieses Reaktionsverhalten in der menschlichen Großhirnrinde bestätigen. Anhand ihrer tierexperimentellen Studien an Ratten beschreiben Dawson u. Hallenbeck (1996) einen Verlust der MAP2-Expression bei permanenter fokaler Ischämie (Okklusion der A. cerebri media) bereits nach einer Std.. Dabei vermuten sie eine irreversible Degeneration dieser Neurone, wobei das Ausmaß des Infarktgebietes mit der Zeit zunimmt. In hippokampalen Zellkulturen konnten Strassner und Fischer (1995) 22 Std. nach einer einstündigen (transienten) globalen Ischämie (Entzug von O₂ und Glukose) eine vollständige neuronale Degeneration mit fehlender MAP2-Expression nachweisen, eine Reaktivierung von MAP2 wird nicht beschrieben. Inuzuka et al. (1990) verzeichneten eine deutliche Abnahme der MAP2-Anfärbbarkeit erst nach 72 Std. einer permanenten Okklusion der Aa. cerebrales mediae. Sie untersuchten allerdings die Neurone der Großhirnrinde, nicht des Ammonshorns.

Weitere Studien beschreiben eine Reaktivierung der MAP2-Expression von Nervenzellen nach einer gewissen Überlebenszeit. Tierexperimentelle Untersuchungen an 7-Tage-alten Ratten konnten 24 Std. nach Ligation der A. carotis interna (unilateral) und anschließender zweistündiger Hypoxie eine maximal verminderte MAP2-Expression aufzeigen - diese war jedoch 72 Std. postischämisch (nach erfolgter Reperfusion) wieder deutlich erhöht. Huh et al. (2003) konnten reversible Antigenmaskierungen bis 24 Std. postkausal (nach Trauma) beobachten, vor allem in den CA-Regionen 3 und 4. Diese Reduktion der MAP2-Expression ging einem neuronalen Untergang zeitlich voraus. Auch Kitagawa et al. (1989) und Yanagihara et al. (1990) vermuten einen Verlust der MAP2-Anfärbbarkeit bei primär noch vitalen Neuronen. Eine irreversible neuronale Degeneration konnten in ihren Studien erst in späteren Stadien festgestellt werden.

Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage nach der Bedeutung und faktischen Aussagekraft der Reduktion der Immunreaktivität des MAP2-Antigens. Ob es sich tatsächlich um einen permanenten Expressionsverlust des Proteins handelt, ist nicht bewiesen - auch nicht, ob hierbei eine irreversible Schädigung der immunnegativen Zellen vorliegt (vgl. Dawson u.

Hallenbeck 1996, Gilland et al. 1998) oder nur ein transienter Antigenverlust bei weiterhin bestehender Vitalität der Zellen (vgl. Kitagawa et al. 1989, Yanagihara et al. 1990) bzw. inwiefern eine Visualisierung des MAP2-Antigens durch andere subtile Veränderungen erschwert ist (Leifer u. Kowall 1993). Als Ursache eines zeitweiligen Verlustes der Immunreaktivität, wie auch in den Studien von Ota et al. (1997) und Huh et al. (2003) beschrieben, muss eine reversible Phosphorylierung von MAP2 oder eine Verschiebung des pH-Wertes im Hirngewebe diskutiert werden⁴⁰. Die erneute postischämische bzw. posttraumatische Erhöhung der Expression von MAP2 könnte auf eine intrazelluläre Reorganisation des Proteins oder auf eine verstärkte Proteinsynthese hindeuten. Weitere aktuelle Untersuchungen der neuronalen MAP2-Expression an menschlichem Untersuchungsgut gehen bei fehlender MAP2-Antigenität nach hypoxisch-ischämischer Hirnschädigung ebenfalls von reversiblen Zellveränderungen aus (Kühn et al. 2005, Wötzel 2009), wobei standardisierte experimentelle Untersuchungen an hippokampalen Zellkulturen bereits nach einstündiger, globaler Ischämie (Entzug von O₂ und Glukose) einen irreversiblen Untergang von Nervenzellen mit Verlust der MAP2-Expression beschreiben (Strassner u. Fischer 1995, Bonde et al. 2005).

In der vorliegenden Studie von Fällen eines Hirntodes kann sowohl ein reversibler Verlust der Immunreaktivität, als auch eine erneute Antigendemaskierung nicht ausgeschlossen werden. Ein irreversibler Verlust der neuronalen MAP2-Antigenität ist nicht - zumindest nicht in sämtlichen Fällen - anzunehmen. Interessanterweise konnte innerhalb des Zeitintervalls A-B^{41*} (vgl. Abb. 3.21) in den ersten 40 Std. postkausal eine kontinuierliche Abnahme MAP2-positiver Neurone festgestellt werden, der Median der Region CA2 blieb unverändert. 48-84 Std. postkausal (Zeitgruppe 3) fand sich in sämtlichen CA-Regionen ein erneuter Anstieg MAP2-exprimierender Neurone. Die medianen Werte waren sogar gegenüber der Zeitgruppe 1 erhöht. Der stärkste Anstieg zeigte sich innerhalb der Region CA3. Letztendlich konnte nach 90 Std. ein erneuter Rückgang der Anzahl MAP2-reaktiver Neurone in sämtlichen CA-Regionen auf Tiefstwerte festgestellt werden.

In gleicher Weise konnten Eguchi et al. (1997) anhand ihrer tierexperimentellen Studien über transiente Ischämie eine markante Abnahme der MAP2-Immunreaktivität innerhalb der

⁴⁰ Anhand humaner, neokortikaler Hirnschnitte beobachteten Burkhart et al. (1998) in ihren Untersuchungen eines anderen Mikrotubuli-assoziiertes Proteins (tau) eine rasche, jedoch teilweise reversible Dephosphorylierung nach 15-60-minütiger Ischämie (Entzug von Glukose und O₂). Nach Wiederherstellung der Glukose- und O₂-Versorgung wurde zeitabhängig eine erneute Phosphorylierung von tau festgestellt.

⁴¹ * Zeitintervall A-B = Zeit des ursächlichen Ereignis bis zur klinischen Hirntod-Diagnose
 Zeitintervall B-C = Zeit von der Hirntod-Diagnose bis zur Beendigung der mechanischen Beatmung
 Zeitintervall A-C = Zeit von dem ursächlichen Ereignis bis zur Beendigung der Beatmung

ersten 48 Std. nachweisen. Eine kontinuierliche, zeitabhängige Reduktion der MAP2-Expression, die von einigen Autoren beschrieben wurden (Yamamoto et al. 1986, Yanagihara et al. 1990, Tomioka et al. 1992, Geddes et al. 1994, Xia et al. 1999) kann in eigenen Untersuchungen - auch aus methodischen Gründen - nicht bestätigt werden. Es ist allerdings bemerkenswert, dass in derjenigen Gruppe, die die längste Überlebenszeit aufweist, tatsächlich die geringste Expression von MAP festgestellt werden konnte.

Bei Betrachtung des Zeitintervalls B-C* (vgl. Abb. 3.21) wurde der stärkste Verlust MAP2-reaktiver Neurone ebenfalls in der längsten Zeitgruppe (ab 40 Std.) nachgewiesen. Und auch das Intervall A-C* (vgl. Abb. 3.22) zeigte primäre Schwankungen der Antigenität, wobei nach 73 Std. (Zeitgruppe 3) in sämtlichen Regionen des Ammonshorns (besonders in CA2 und CA3) eine Zunahme der Expression des MAP2 festgestellt werden konnte. Ab 150 Std. (Zeitgruppe 4) war diese in allen CA-Regionen nahezu vollkommen erloschen.

Vorliegende Untersuchungen zur Expression von MAP2 in Fällen eines Hirntodes unterstützen die Theorie einer möglichen Reaktivierung der neuronalen MAP2-Expression nach einer gewissen Zeitspanne (Ota et al. 1997, Kubo et al. 1998, Huh et al. 2003), wobei - ebenfalls durch eigene Untersuchungen bestätigt - im Mittel zu keiner Zeit eine MAP2-Expression vergleichbar mit derer des Kontrollkollektivs beobachtet werden konnte (Ausnahme: Drei Sonderfälle). Eindrücklich konnten außerdem diejenigen Hirntod-Fälle, die den stärksten Verlust der MAP2-Reagibilität präsentierten, tatsächlich den längsten Zeitintervallen zugeordnet werden - was wiederum für eine zeitabhängige irreversible Hirnschädigung spricht. Anhand der immunhistochemischen Reaktion kann die Ursache des Verlustes der Antigenität der Nervenzellen für MAP2 jedoch nicht sicher bestimmt werden.

Es muss davon ausgegangen werden, dass der neuronale Untergang nach Ischämie bzw. Trauma das Abbild eines kontinuierlichen Übergangs von nekrotischen zu apoptotischen Mechanismen darstellt (Raghupathi 2004). Obwohl die CA1-Region des Ammonshorns in allen untersuchten Zeitgruppen der verschiedenen Zeitintervalle die geringste MAP2-Expression aufwies, war die Verteilung der MAP2-Expression (i.e. eine Erhöhung der Antigenität oder eine nahezu vollständige neuronale Degeneration) in Abhängigkeit vom zeitlichen Verlauf in allen vier CA-Regionen ähnlich: In den längsten Zeitgruppen war die geringste MAP2-Expression vorhanden. Anhand der Ergebnisse der eigenen Studie sind letztendlich irreversible neuronale Schädigungsmuster spätestens ab 90 Std. postkausal (A-C) als sicher anzunehmen. Da das eigene Fallmaterial jedoch keine standardisierten Versuchsbedingungen aufweisen kann, sind die exakte Dauer der Ischämie sowie die

Komplexizität weiterer individueller Einflussfaktoren in Fällen eines Hirntodes nicht vollständig aufgeklärt. Eine irreversible Schädigung der Neurone des Ammonshorns in Fällen eines Hirntodes ist daher sicher auch in früheren Zeitphasen möglich, sofern eine globale Ischämie über einen Zeitraum von mindestens 30 Min. Dauer vorgelegen hat (Strassner u. Fischer 1995, Bonde et al. 2005).

Die drei Sonderfälle wurden in den Untersuchungen der Zeitabhängigkeit nicht berücksichtigt, da sie das Ergebnis durch ihre Zugehörigkeit zu verschiedenen Zeitgruppen zu stark verzerrt hätten. Sie weisen jedoch darauf hin, dass die MAP2-Expression als Spiegel pathophysiologischer Vorgänge eben nicht kongruent mit der klinischen Hirntod-Diagnostik sein muss.

Es muss festgestellt werden, dass auch nach Anwendung dieser speziellen immunhistochemischen Reaktion der Tod des Gehirns in Einzelfällen nicht fassbar ist. Eine sichere morphologische Nachweismethode des Hirntodes ist, insbesondere bei einer frühzeitigen Diagnostik, nicht gegeben. Durch die vorliegenden Ergebnisse sind jedoch berechnete Zweifel an einer grundlegenden permanenten oder transienten, global-ischämischen Schädigungskomponente in Fällen eines Hirntodes berechnete.

4.3 Überlegungen zur retrospektiven Schätzung eines Todeszeitpunktes

Die Feststellung des Hirntodes kann derzeit nur im Rahmen einer klinischen Verlaufsbeobachtung stattfinden (Schneider et al. 1969). Dies bedeutet, dass „ex post“ durch eine funktionelle Befunddiagnostik der bereits eingetretene Hirntod erfasst werden soll. Penin und Käufer (1969) sprechen von „effektiver Todeszeit“, „weil man den genauen Zeitpunkt des Todeseintrittes für den Einzelfall niemals exakt bestimmen kann“ (Reisner 1973). Der „Eintritt des Hirntodes ist faktisch unbeobachtbar“ (Lindemann 2001), da „der Tod wie das Leben in zeitlicher Hinsicht ein prozesshaftes Geschehen ist“ (Krösl u. Scherzer 1973). Daher muss der Nachweis eines Todeszeitpunktes „vom biologischen Standpunkt aus in jedem Fall willkürlich sein“ (Pendl 1986: S.6), die Festsetzung als „irreversibler Funktionsausfall des gesamten Gehirns“ ist eine reine Konvention (Käufer 1971: S. 4). Vor pathophysiologischem Hintergrund wird der Tod des Gehirns über einen intrakraniellen Zirkulationsstillstand definiert (Schneider et al. 1999, Oehmichen et al. 2009a). Klinisch wird der Zeitpunkt des Zirkulationsstillstandes jedoch nicht erfasst, allenfalls besteht der Versuch, diesen Zeitpunkt

durch eine beobachtende und abwartende Haltung zu übergehen. Folglich ist der Moment des auf pathophysiologischen Kriterien basierenden Hirntodes nicht bekannt (Deutsch 2008: S. 448), und die tatsächliche Zeitdauer des Hirntodes bei fortgesetzter Beatmung kann daher oft nur ein Schätzwert sein (Schneider et al. 1969).

Die Zeitdauer bis zur Durchführung der Hirntoddiagnostik (A-B) ist für die Entwicklung morphologisch fassbarer Schädigungen der Hirnstruktur ebenso von Bedeutung, wie das Zeitintervall bis zum Ende der Beatmungssituation (B-C). Obwohl die pathologisch-anatomischen Befunde bei der klinischen Diagnostik des Hirntodes eine untergeordnete Rolle spielen, sind sie für den Rechtsmediziner insofern relevant, als die Frage zu prüfen ist, ob retrospektiv aus dem pathomorphologischen Zusammenspiel verschiedener und verschieden ausgeprägter Befunde Feststellungen über den Zeitpunkt des Hirntodes bzw. der primären Hirnschädigung getroffen werden können (Schwerd 1969, Schewe u. Adebahr 1970, Spann 1973, Holczabek 1973, Oehmichen 1994, Oehmichen et al. 2009a).

4.3.1 Der Zeitfaktor: Assoziation der neuropathologischen Kriterien zur Dauer der „Hirntodzeit“ (B-C) und der „Überlebenszeit“ (A-B)

Verschiedene Untersuchungen (vgl. Tab. 4.2) bestätigen die Ausbildung pathomorphologischer Druckzeichen mit einer beginnenden Destruktion bereits 12 Std. nach einem totalen Zirkulationsstillstand (Black 1978a, b) bzw. nach Demonstration eines Nulllinien-EEGs (Leestma et al. 1984), wobei ischämische und autolytische Veränderungen nach 20 Std. fehlender Hirnperfusion deutlich ausgeprägter erschienen (Pearson et al. 1978, Korein 1978a). Eine durchaus kritikwürdige Studie von Walker (1978) berichtet ab einer 24-stündigen Beatmungszeit von spezifisch ausgeprägten Befunden mit autolytischen und nekrotischen Veränderungen innerhalb verschiedener Hirnregionen⁴². In der eigenen Studie konnten makroskopisch sichtbare Druckzeichen bereits innerhalb der ersten 12 Std. nach klinischer Hirntoddiagnostik (B-C) in nahezu sämtlichen Fällen festgestellt werden. Spezifischere Veränderungen, wie eine Nekrose der Hypophyse und die Abtropfung nekrotischen Kleinhirngewebes in den Spinalkanal (vgl. Tab. 4.1) fanden sich bereits nach dieser kurzen Zeitdauer (12 Std.) in weit über der Hälfte der Fälle. Nach 24 Std. waren die Befunde

⁴² Die Auswertung von Walker (1975, 1978) basiert auf dem Fallmaterial einer prospektiv angelegten „Collaborative Study of Cerebral Death“ der „National Institutes of Health“, USA, welche hauptsächlich Koma-Patienten einschließt. Hirntod-Fälle werden undurchsichtig vorgestellt und es gab Unstimmigkeiten zwischen den Bewertungen morphologischer Befunde. Die Korrelation zur „Respiratorzeit“ kann nicht als kritischer Faktor angenommen werden, hier sind keine Kriterien zur Erfassung der Perfusion oder anderen physiologischen Faktoren gegeben (vgl. Adams 1976, Kommentar von Korein 1978b, Molinari 1989).

allerdings ausgeprägter und häufiger anzutreffen. Schneider et al. (1969) konnten diese Kriterien erst nach Hirntodzeiten von mehr als 24 bis 36 Std. beschreiben. Auch die Bildung von Demarkationszonen in den Grenzgebieten der ischämischen Nekrose beobachten stellten sie erst nach 24 Std. fest. In eigenen Untersuchungen waren demgegenüber alle Formen der Reaktion bereits in den kürzesten untersuchten Zeitintervallen in einem gewissen Prozentsatz der Fälle vorhanden. Ab 24 Std. nahm die Anzahl der Fälle mit einer Emigration von Leukozyten in Halsmark und Hypophyse zu. Schröder (1983) fand eine verstärkte Emigration von Granulozyten ab 12 Std. in bis zu 24% der Fälle, während in eigenen Auswertungen zu dieser Zeit bereits in 50% der Fälle eine zelluläre Demarkation festgestellt werden konnte. Histopathologische Befunde des N. opticus waren stets in über 50% vorhanden, eine zeitliche Korrelation wurde nicht nachgewiesen. Weit aus seltener wurde dieser Befunde von Schröder beschrieben (nach 12 Std. in 13% der Fälle), wobei ebenfalls keine Korrelation zur Zeit festgestellt wurde. Die deutlich ausgeprägte Pathomorphologie des eigenen Fallmaterials könnte auf der längeren Manifestationszeit bis zur klinischen Hirntod-Diagnostik beruhen (A-B, vgl. Kap. 4.1.2). Rückschlüsse auf den pathophysiologischen Todeszeitpunkt sind demnach unmöglich. Dies wird auch durch die Tatsache verstärkt, dass die Zeitwahl der klinischen Hirntod-Diagnostik nie eine Konstante ist, sondern allenfalls eine retrospektiv möglichst frühzeitige Annäherung an das Ereignis „Hirntod“. Die Morphologie stellt sich daher weitestgehend unabhängig von einer klinischen Diagnostik dar (vgl. Kap. 4.1.6).

Ist der Zeitpunkt der ursächlichen Hirnschädigung bekannt, sollte dieser für den Versuch einer zeitlichen Rekonstruktion herangezogen werden, da er unabhängig ist von einer klinischen Diagnostik (Zeitintervall A-B oder A-C⁴³). In eigenen Untersuchungen konnte die zum Teil deutliche Zunahme makropathologischer Befunde bei einem Zeitintervall von mehr als 21 Std. nach der primären Hirnschädigung festgestellt werden. Ein weiterer überraschender Anstieg fand bei einer postkausalen Zeitdauer über 40 Std. statt. Makroskopische Druckzeichen (Abflachung der Gyri, Kleinhirndruckkonus, Uncusschnürfurchen) sind nahezu in sämtlichen untersuchten Zeitintervallen zu 100% vorhanden. Eine Nekrose der Tonsillen zeigte sich stets in über 50% der Fälle und wurde nach 24 Std. und im weiteren Zeitverlauf häufiger beobachtet. Ebenso konnte die Abtropfung nekrotischen Kleinhirnmaterials stets in über 50% der Fälle bestätigt werden, mit der Zeit

⁴³ Da die retrospektiv evaluierte Morphologie der Einzelfälle in Korrelation mit der Überlebenszeit (A-B) selbstverständlich abhängig ist von der Zeit nach dem Eintritt des Hirntodes (B-C), wurden die Befunde schließlich mit der Gesamtzeit korreliert (A-C). Dieses Zeitintervall ist unabhängig von einer funktionell orientierten Hirntod-Diagnostik - das zeitliche Auftreten der Befunde innerhalb der Zeitintervalle A-B und A-C ist jedoch vergleichbar.

häufiger und verstärkt nach 48 Std. - allerdings zu keinem Zeitpunkt in sämtlichen Fällen. Eine zeitliche Korrelation der Emigration von Entzündungszellen in die Grenzzonen konnte aufgezeigt werden. Nekrosen bzw. druckbedingte Blutungen und eine Demarkation durch Leukozyten waren nach 48 Std. in weit über der Hälfte der Fälle vorhanden. Makrophagen wurden verstärkt erst nach längeren Zeitintervallen angetroffen.

In tierexperimentellen Untersuchungen konnten Matakas et al. (1973) nach einer 20-minütigen, primären, globalen Ischämie bereits 6 Std. postischämisch ein ausgeprägtes Hirnödem mit ultrastrukturell sichtbarer Zellschädigung feststellen. Die Korrelation dieser Veränderungen zur Dauer der Überlebenszeit war deutlich: Nach 12, 24 und 48 Std. waren sämtliche Befunde verstärkt. Die Ausbildung einer Herniation führte zu druckbedingten Blutungen sowie weitverbreiteten nekrotischen Arealen mit Desintegration des Hirngewebes und Abtropfung der Kleinhirntonsillen in den Spinalkanal. Vor allem bei kurzen Zeitintervallen können die morphologischen Befunde somit sehr diskret und unspezifisch ausfallen (vgl. Masshoff 1968, Schröder 1983) - eine präzise Schlussfolgerung bezüglich des Beginns des Hirntodes ist dennoch nicht mit Sicherheit möglich. Auch nach längerer Manifestationszeit konnten Fälle verzeichnet werden, die lediglich unspezifische Schädigungen von milder Ausprägung aufwiesen (Loeb 1975). Hier wird vor allem das Fehlen einer Reperfusion des bereits geschädigten Gewebes diskutiert (Schröder 1983; vgl. Fußnote 34). Nach Kramer (1973) fehlen ischämische Nervenzellschäden bei einem primär eingetretenen, permanenten Zirkulationsstillstand durch die akute Unterbrechung sämtlicher Stoffwechselvorgänge. Bei diesem „*Katastrophentod*“ unterliegt im weiteren Verlauf das gesamte Gehirn autolytischen Veränderungen, es resultiert eine „areaktive Nekrose“ des Hirnorgans (Masshoff 1968, Matakas et al. 1973, Oehmichen 2005) mit Demarkation in den Grenzzonen. Dennoch ist die globale zerebrale Ischämie in einigen Fällen nur vorübergehend. Verschiedene Untersuchungen beschreiben eine Reperfusion des bereits geschädigten Gewebes (Pearson 1977, Schröder 1983, Leestma 1984, Alvarez 1988, vgl. Stratmann 1978) aufgrund einer verzögerten, intrakraniellen Druckminderung. Vor allem bei primär lokaler Hirnschädigung können einige Hirnareale stärker nekrotisch sein als andere (Pendl 1986). Durch die ungleichmäßige Ausbreitung des Hirndrucks tritt auch der intrakranielle Kreislaufstillstand nicht synchron ein und in einigen Regionen kann über eine bestimmte Zeit eine Restzirkulation bestehen. Hämatogene Reaktionen wurden in diesen Fällen auch innerhalb des Gehirns festgestellt (Stratmann 1978, Unterharnscheidt 1993).

Anhand der bisherigen Überlegungen und der Ergebnisse eigener Untersuchungen mit anschließendem Literaturvergleich sind folgende Aspekte zu berücksichtigen, die eine präzise Feststellung eines Zeitpunktes zwischen Leben bzw. Sterben und Hirntod nur schwer ermöglichen: Zwar konnte eine gewisse Korrelation der Zell- und Gewebeveränderungen mit der Überlebens- bzw. Hirntodzeit festgestellt werden, jedoch muss auch hier eine Abhängigkeit von zahlreichen Faktoren - wie der Art der Primärschädigung, der Dynamik einer Zunahme des Hirnvolumens, vom Ausmaß der ischämischen Zellschädigungen, dem Verhältnis zwischen intra- und extrazerebralem Perfusionsdruck (allgemeiner Blutdruckabfall) sowie der Möglichkeit einer zumindest partiellen und transienten Reperfusion - diskutiert werden. Eine präzise zeitliche Evaluation dieser vielfältigen pathogenetischen Einflussfaktoren kann durch eine retrospektiv-morphologische Standarddiagnostik nicht erfolgen, zumal sich die Faktoren wechselseitig im Sinne eines *circulus vitiosus* induzieren, reduzieren oder verstärken. Demnach sind auch ischämische, nekrotische und autolytische Veränderungen zeitlich nicht präzise einzuordnen, ebenso wenig wie die Emigration von Entzündungszellen innerhalb der Grenzbereiche als Reaktion auf genannte Hirnschädigungen (Kramer 1973). Die Befunde können sich in sämtlich untersuchten Zeitintervallen präsentieren, wenn auch nicht in jedem Einzelfall - der Zeitpunkt der klinisch-funktionellen Hirntod-Diagnostik stellt sich weitgehend unabhängig von morphologischen Kriterien dar.

4.3.2 Zur Kontroverse um ein Todeskriterium rein funktioneller Definition

Die klinische Feststellung der irreversibel erloschenen Gesamtfunktion des Gehirns erfordert kein spezifisches morphologisches Korrelat. „*Der Hirntod wird klinisch wesentlich häufiger formuliert*“, bestätigten Schneider et al. (1969), als er retrospektiv durch eine pathomorphologische Diagnostik erkennbar wäre. Ebenso wie die Vielfältigkeit pathogenetischer und pathophysiologischer Faktoren wurde im Studienvergleich eine hohe Variabilität der neuropathologischen Befunde in Fällen eines Hirntodes festgestellt (vgl. Tab. 4.2), wobei die Totalnekrose des Gehirns (Schneider et al. 1969, Schewe u. Adebahr 1970) einen Extremfall darstellt. Häufiger ist mit lokal begrenzten Schädigungen geringeren Ausmaßes zu rechnen. Die Gesamtfunktion des Gehirns hängt eben nicht vom „*Überleben einzelner neuronaler Zellverbände*“ oder von diffusen „*Inseln*“ funktionsfähiger Neurone ab (Duven u. Kollrack 1970, Leestma 1984, Bernat 1992).

Grundlegend stellt sich jedoch die Frage, ob ein Funktionsverlust des gesamten Gehirns

tatsächlich den endgültigen Hirntod - und Tod - des Menschen darstellen kann, wenn neuropathologisch lediglich „Inseln“ geschädigten Gewebes vorgefunden werden. Dies betrifft vor allem die Erfüllung des Kriteriums der Irreversibilität. Des Weiteren ist ungeklärt, welche Bereiche des Gehirns „funktionell“ betroffen sein müssten, um einen Ausfall der Gesamtfunktion zu rechtfertigen. Es erscheint fraglich, ob diese Zuordnung jemals vollständig möglich sein wird.

Die Diagnose des Todes lässt sich immer nur ex post, nach erfolgtem Todeseintritt stellen. Ebenso wie der Tod ist auch der Hirntod ein prozesshaftes Geschehen, wobei der klinisch diagnostizierte Funktionsausfall sehr früh beobachtet werden kann - sogar bereits vor dem Befund einer elektrozebralen Stille im EEG und vor dem Eintritt eines angiographisch nachweisbaren zerebralen Kreislaufstillstandes (Stratmann 1978: S.89). Das EEG erlaubt dabei ebenfalls „lediglich“ eine Beurteilung der Hirnfunktion. Als Konsequenz eines Zirkulationsstillstandes können die morphologischen Veränderungen ihrer pathophysiologischen Referenz (und dem eventuell klinisch bereits evaluierten Funktionsausfall) nur mit einer gewissen Latenzzeit folgen (Käufer 1971: S.90, Matakas 1973). Dabei besteht je nach Hirnregion ein neuronaler Funktionsverlust bereits nach einer Dauer der Ischämie (Anoxie) von 10-120 Sekunden. Die Irreversibilität des Funktionsausfalls ist nach einer Ischämiezeit von etwa 20 Minuten anzunehmen (Penin u. Käufer 1969, Arnold 1976, Oehmichen et al. 2009a). Bonde et al. (2002) weisen in ihren Untersuchungen bezüglich des neuronalen Zelluntergangs an hippokampalen Zellkulturen darauf hin, dass funktionelle elektrophysiologische Veränderungen in der Regel früher auftreten, als histologisch nachweisbare Zellschädigungen, wie dem Verlust der MAP2-Reagibilität - obgleich dieser als frühzeitiger Marker einer ischämischen Zellschädigung gilt.

Der „*Ausfall aller Funktionen des Großhirns, Kleinhirns und Hirnstamms*“ (WB-BÄK 1998) ist neuropathologisch mit den bisher zur Verfügung stehenden Methoden - zumindest bei rapiden Verläufen - nicht zuverlässig feststellbar. Auch durch den speziellen immunhistochemischen Nachweis des ischämie-spezifischen MAP2-Antigens konnte der endgültige Funktionsverlust bzw. ein neuronaler Zelluntergang nicht in allen Hirntod-Fällen bestätigt werden. Aufgrund vorliegender Auswertungen der neuronalen Expression von MAP2 müssen daher - unterstützt durch die ausschließlich funktionelle Definition des Hirntodes - berechtigte Zweifel an der grundlegenden pathophysiologischen Annahme einer permanenten zerebralen Ischämie bzw. der sistierenden Perfusion des Gehirns in Fällen eines Hirntodes vorgebracht werden (vgl. Saposnik u. Muñoz 2008). Ein retrospektiv angelegter

Bestätigungstest dieser folgenschweren Diagnose ist bisher nicht vorhanden.

Doch trotz des Mangels eines durchgehend vorhandenen morphologischen Äquivalents des rein funktionell definierten Hirntodkriteriums: Eine streng biologisch orientierte Sichtweise, welche den naturwissenschaftlichen Nachweis des Todes jeder einzelnen Zelle postulierte, wäre weder sinnvoll, noch praktikabel. Der Hirntod sollte möglichst frühzeitig *und* sicher bewiesen werden. Nicht die funktionslose Restdurchblutung isolierter Zellinseln, sondern die Tätigkeit des Gehirns als funktionsfähiges Ganzes ist ausschlaggebend (Arnold 1976, Bertels 2002). Nicht bestimmte Hirnfunktionen oder definierte Areale des Gehirns sind entscheidend, sondern allgemein der Verlust einer integrativen Gesamtfunktion. Das Ganzhirntodkriterium ist durch standardisierte und empirisch gut belegte Handlungsanweisungen zuverlässig feststellbar. Bei Einhaltung dieser Richtlinien (WB-BÄK 1998) besteht Gewissheit, den Tod des Menschen festzustellen. *„Aber die dabei verwendeten, vor allem empirischen Methoden sind auch nur vorläufig. ... Darum ist der Hirntod eine nach heutigem Wissen akzeptable Festlegung der Todeszeitbestimmung und eine Methode der Todesfeststellung. Nicht mehr und nicht weniger“* (Lehmann 1996).

Was der Tod bedeutet, können wir mit unseren Sinnen nicht erfassen. Der Hirntod als Todeskriterium muss jedoch definierbar und nachvollziehbar sein. *„Der Ausfall aller Lebensfunktionen auf der zellulären Ebene ist kein notwendiges Kriterium für die Feststellung des Todes“* (Weltärztebund 2008). Allerdings entzieht sich der Verlust der gesamten Hirnfunktion als gültiges Kriterium für die Feststellung des Todes in einzelnen Fällen einer morphologischen Bestätigung. *„Der ‚Hirntod‘ ist in gewisser Weise auch ein unsichtbarer Tod“* (Lehmann 1996), doch *„...eine Definition kann Wissen nicht ersetzen“* (Jonas 1987: S. 233). Nach den vorliegenden Ergebnissen muss es daher weiterhin ein Bedürfnis des Menschen sein, dem Hirntod als Todeskriterium *„ein Angesicht“* zu geben. Neuere bildgebende Forschungsergebnisse zeigen eine frühzeitige und nicht-invasive Methode der Hirntod-Diagnostik durch die CT-Angiographie und CT-Perfusion (Qureshi et al. 2004, Heran et al. 2008, Escudero et al. 2009) und durch die SPECT (Munari et al. 2005). Doch wie stellt sich ein integrativer, lokalisationsloser Funktionsverlust morphologisch dar? Kann es eine präzise biochemische Marker-Substanz geben, evtl. mit prädiktivem Wert? In Fällen schwerer Schädelhirntraumata, die zum Hirntod führten, analysierten Dimopoulou et al. (2003) den Anstieg des Kalzium-bindenden Proteins S-100b im peripheren Blutserum. Dieses Protein kommt im Zytosol von Astrozyten und Schwann-Zellen vor und weist Schädigungen der Hirnzellen mit hoher Spezifität nach, ebenso wie eine Funktionsstörung der Blut-Hirn-

Schranke. Da in Hirntod-Fällen stark erhöhte Werte festgestellt werden konnten, wäre eine - wiederum retrospektive - Korrelation mit morphologischen Befunden, vor allem der Darstellung der Ischämie-spezifischen neuronalen Expression von MAP2, von großem Interesse.

4.4 Kritische Anmerkungen zu den eigenen Untersuchungen

Im Mittelpunkt der vorliegenden retrospektiven Studie steht das menschliche Gehirn und dessen pathomorphologische Veränderungen bei klinisch diagnostiziertem Hirntod. Da bei menschlichem Untersuchungsgut stets individuelle Faktoren (Lebensstil, Krankheiten, Genetik, aktuelle Situation) die Ausprägung der Pathomorphologie mitbestimmen, sind generalisierte Aussagen über die Ausprägung bestimmter Symptome, wenn überhaupt, nur durch hohe Fallzahlen zu rechtfertigen. Die individuellen Vorraussetzungen stellen jedoch einen schwer zu analysierenden Faktor dar. So kann z.B. eine individuell variierende, asymmetrische Gefäßversorgung der Hippocampi mitverantwortlich sein für die jeweilige Ausprägung des geschädigten Bezirks. Dieser Aspekt betrifft sowohl den Durchmesser und Fluss innerhalb der Karotiden und Vertebralarterien, als auch - von höherer Relevanz für die Auswirkungen ischämischer Schädigungen - eine Asymmetrie des Circulus Willisii (Riggs u. Rupp 1963, Stehbens 1963). Sowohl bei einem Studienvergleich humanen Fallmaterials, als auch bei dem Vergleich mit tierexperimentellen Forschungsergebnissen, sind Störfaktoren und Fehlerquellen durch die Individualität der jeweiligen Einzelfälle nur schwer zu vermeiden.

In der eigenen Studie wurden - soweit vorhanden - individuelle Faktoren, wie Alter, Geschlecht und die primäre Schädigungsart des Gehirns sowie verschiedene zeitliche Aspekte berücksichtigt. Dennoch ist es nicht möglich, die komplizierten und vom Einzelfall abhängigen Wechselwirkungen zwischen ischämischen und raumfordernden Prozessen, intrakranieller Zirkulation, Ödembereitschaft und Druckentwicklung sowie peripheren Kreislaufreaktionen durch eine retrospektive morphologische Diagnostik gänzlich zu erfassen (Schneider et al. 1969). Ischämische und autolytische Veränderungen können einander überlagern, sich induzieren, modifizieren oder beschleunigen, wobei sich das Zusammenspiel einer präzisen, vollständigen Rekonstruktion entzieht.

Ein weiterer Aspekt ist die prinzipielle Schwierigkeit der Übertragbarkeit der im Tierversuch erhobenen Daten auf den Menschen. So kann eine ausgeprägte Divergenz der experimentellen und klinischen Forschung darauf zurückgeführt werden, dass jeweils unterschiedliche Spezies (Nagetiere versus Primaten) untersucht wurden. Trotz möglicher Diskrepanzen und der erschwerten Vergleichbarkeit müssen jedoch auch weiterhin tierexperimentelle Studien herangezogen werden, da diese unter anderem in der Lage sind, gezielt die am Zellschaden beteiligten pathophysiologischen Vorgänge aufzudecken (vgl. De Keyser et al. 1999).

Die Auszählung und Wertung sämtlicher Präparate der MAP-, NAS- und CD68-Darstellungen erfolgte blind, d.h. ohne Kenntnis des jeweiligen, dem Objekt zugehörigen Kollektivs (Hirntod- vs. Kontrollkollektiv) und damit ohne Kenntnis jeglicher fallspezifischer Diagnosen, Befunde und zeitlicher Daten. Durch die Verblindung des Fallmaterials wurde versucht, möglichst objektiv zu arbeiten. Eventuelle Fehler in der Auszählung lassen sich jedoch aufgrund der bestehenden Subjektivität der Bewertung nicht vollkommen ausschließen.

Im Falle der Darstellung des MAP2-Antigens stellen die dargestellten Ergebnisse das relative Verhältnis MAP2-positiver zu MAP2-negativen („Zellschatten“) Neurone dar und geben folglich nicht die absolute Zahl der hypoxisch-ischämisch geschädigten Nervenzellen wieder. Bereits in Auflösung befindliche und phagozytierte nekrotische sowie apoptotisch zugrunde gegangene Neurone entziehen sich naturgemäß der lichtmikroskopischen Auszählung. Die Validität des Vergleichs der verschiedenen Kollektive wird dadurch nur unwesentlich beeinflusst, da bei der Auszählung stets die Anzahl der positiv reagierenden Neurone erfasst wurde.

Die Möglichkeit eines partiellen oder vollständigen Verlustes der MAP2-Immunreaktivität durch die Formalinfixierung⁴⁴ und die Einbettung in Paraffin kann in eigenen Untersuchungen praktisch ausgeschlossen werden, da ein schonendes Verfahren der Antigendemaskierung durch Erhitzung in der Mikrowelle („Antigen Retrieval“) gewählt wurde (Shi et al. 1991). Bei Anwendung dieser Methode wird die MAP2-Immunreaktivität selbst bei einer Formalinfixation über mehrere Jahre nicht beeinträchtigt (Evers u. Uylings 1997, Kan et al. 2005).

⁴⁴ Durch die formalininduzierte Bildung chemischer Quervernetzungen der Epitope kommt es zu einer „Maskierung“ des Antigens während der Fixation.

Ohne Zweifel ist auch die Zeitdauer nach dem Abbruch der intensivmedizinischen Aufrechterhaltung einer Kreislauffunktion bis zur endgültigen Fixierung und Konservierung des Gehirns bedeutend für die Entstehung pathomorphologischer Veränderungen, insbesondere auch die MAP2-Reagibilität. Die Ausprägung morphologischer Befunde wird sowohl von agonalen Prozessen, als auch durch die Zeitdauer bis zur Hirnfixierung mitbestimmt (Schneider et al. 1969, Jellinger 1968). Obwohl einige Autoren eben diese Korrelation negieren (Leestma et al. 1984), ist die Autolyse als postmortale Manifestation ebenfalls zeitabhängig, wie auch die Ausprägung von Reaktionen in den zirkulatorischen Grenzbereichen. Allerdings können sich autolytische Befunde im Falle des Hirntodes mit ischämischen Veränderungen überlagern, eine zeitliche Abfolge lässt sich kaum rekonstruieren.

Das Hirngewicht nimmt in der Regel in postmortalen Stadien - unabhängig von einem Hirntodsyndrom - an Volumen zu (Kretschmann u. Weinreich 2002). Unter anderem wurde eine Diffusion von Liquor cerebrospinalis in das Hirngewebe beschrieben (Schultze 1923). Die Gewichtszunahme ist in gewissen Grenzen abhängig auch vom zeitlichen Intervall zwischen Tod und Sektion. Untersuchungen, die ebenfalls unabhängig von einem Hirntodsyndrom in postmortalem Stadien durchgeführt wurden, konnten in den ersten 6 bis 8 Std. nach dem Tod keine autolytischen Befunde innerhalb des Hirngewebes nachweisen, ebenso wenig wurden Veränderungen der Enzymaktivität oder der Konzentration bestimmter Transmitter festgestellt (Oehmichen 1980, Oehmichen u. Gencic 1980). Dennoch sind postmortale Veränderungen abhängig von dem fortschreitenden postmortalen Intervall und im Falle eines Hirntodes folglich bereits aktiv, bevor ein allgemeiner Organtod einsetzt. Ferner können autolytische Prozesse bei Hirntoten aufgrund der Konstanthaltung einer Körpertemperatur von etwa 37° C verstärkt wirken (Oehmichen 1994, Pearson et al. 1978, Ouaknine et al. 1973). In Fällen einer postmortalen Kühlung verlaufen autolytische Prozesse und enzymabhängige Reaktionen entsprechend langsamer (Alam et al. 2005).

5. Zusammenfassung

Der „Hirntod“ ist heute nahezu weltweit als sicheres Kriterium des menschlichen Todes anerkannt. Per definitionem ist seine Feststellung an eine klinische Diagnostik gebunden. Die „*Kriterien zur Feststellung des Hirntodes*“ des Wissenschaftlichen Beirates der Bundesärztekammer (1998) verlangen den „*Ausfall aller Funktionen des Großhirns, Kleinhirns und Hirnstamms*“. Dabei liegt eine massive direkte (z.B. intrazerebrale Blutung) oder indirekte (z.B. Ischämie, Intoxikation) Schädigung des Gehirns vor. Pathophysiologisch steigt der intrakranielle Druck über den zerebralen Perfusionsdruck hinaus an, es resultiert ein globaler und im Extremfall permanenter Stillstand der Hirnzirkulation. Die Atmung wird bei noch spontaner Herzaktion artifiziell aufrechterhalten. Während die funktionellen Folgen des intrakraniellen Kreislaufstillstandes durch eine klinische Diagnostik zuverlässig feststellbar sind, existiert bis dato kein spezifisches pathomorphologisches Korrelat.

Die Neuropathologie des Hirntodes steht daher im Zentrum eigener Untersuchungen. Unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht und der primären Hirnschädigung wird ein aktueller pathomorphologischer Kriterienkatalog des eigenen Fallmaterials vorgestellt. Des Weiteren werden folgende Aspekte diskutiert:

1. Hat sich die Morphologie des Hirntodes seit den 60er bis 80er Jahren verändert, da eine klinische Tendenz zu einer unverzüglichen Organentnahme besteht?
2. Ist mit dem frühzeitigen Verlust der neuronalen MAP2-Expression nach zerebraler Ischämie ein sicheres diagnostisches Kriterium für den Hirntod gegeben?
3. Besteht eine Zeitabhängigkeit der morphologischen Befunde? Ist retrospektiv eine Aussage zum „Zeitpunkt des Hirntodes“ möglich - unabhängig von einer klinischen Diagnostik?

ad 1. In der vorliegenden Studie wurde die Häufigkeit neuropathologischer Veränderungen des Gehirns in 149 Fällen eines Hirntodes ausgewertet. Zusätzlich erfolgte eine feingewebliche Untersuchung der Demarkationszonen: Halsmark (n= 53), Hypophyse (n= 19) und N. opticus (n=20). Die Emigration von neutrophilen Granulozyten wurde mittels des Enzyms Naphthol AS-D Chlorazetat Esterase (NAS-DCI AE) dargestellt, eine Einwanderung von Makrophagen durch den Nachweis des CD68-Epitops. Anhand einer umfassenden Literaturuntersuchung wurden die morphologischen Kriterien des eigenen Fallmaterials mit aktuellen Auswertungen und Ergebnissen der 60er bis 80er Jahre verglichen.

Ergebnisse: Ein generalisiertes Hirnödem mit makroskopischen Druckzeichen konnte in 100% der Fälle festgestellt werden. Spezifische Befunde kennzeichneten die Irreversibilität

des Hirntodes: In 76% der Fälle konnte nekrotisch und autolytisch verändertes Kleinhirngewebe innerhalb des Spinalkanals festgestellt werden. In der Mehrzahl der Fälle war bereits eine Demarkation mit reaktiven Veränderungen innerhalb des Halsmarks (60%), des N. opticus (80%) sowie der Hypophyse (95%) vorhanden. Die Wertigkeit der einzelnen Befunde wurde in der Diskussion mit früheren Studien verglichen, wobei sich eine enorme Variabilität offenbarte: Fälle mit unspezifischen und diskret ausgeprägten Befunden fanden sich ebenso wie Fälle mit ausgedehnten Nekrosen und „Verflüssigung“ des Hirngewebes. Die Annahme einer aktuell geringeren Ausprägung pathomorphologischer Befunde im Vergleich zu früheren Studien ist allgemein nicht gerechtfertigt. Nach Auswertung des eigenen, umfangreichen Fallmaterials ergibt sich ein aktuelles diagnostisches Spektrum der Morphologie in Fällen eines Hirntodes, das sich nicht grundsätzlich von früheren Untersuchungen unterscheidet.

ad 2. Es erfolgte eine quantitative Analyse der *neuronalen Funktion* mittels eines Antikörpers gegen das Mikrotubuli-assoziierte-Protein 2 (MAP2) - ein Antigen, dessen neuronale Expression bekanntermaßen sehr frühzeitig nach ischämischen Hirnschädigungen ausfällt. Innerhalb einer gegenüber Sauerstoffmangel extrem vulnerablen Hirnstruktur - dem Ammonshorn - wurde die neuronale MAP2-Expression durch Auszählen von je 100 Nervenzellen pro Ammonshorn-Region (CA1 bis CA4) in 27 Fällen eines Hirntodes erfasst und einem Kontrollkollektiv (Akutversterben, n= 17) gegenübergestellt.

Ergebnisse: Die neuronale MAP2-Expression in Fällen eines Hirntodes war in allen Regionen des Ammonshorns (CA1-CA4) signifikant geringer als diejenige des Kontrollkollektivs ($p \leq 0,001$). Die höchste Vulnerabilität wies im Vergleich der CA-Regionen des Hirntod-Kollektivs die CA1-Region des Ammonshorns auf ($p \leq 0,004$). Auffällig waren jedoch drei Hirntod-Fälle (etwa 10%), bei denen eine Immunreaktivität des MAP2-Antigens ähnlich derer der Kontrollgruppe nachgewiesen wurde. Weitere Unterschiede im Vergleich zu anderen Hirntodesfällen konnten nicht festgestellt werden. Mögliche Ursachen einer postischämisch nachweisbaren MAP2-Expression wurden diskutiert, ebenso wie die in einigen Fällen vorhandene Darstellung des MAP2-Antigens in Astrozyten. Es muss festgestellt werden, dass auch nach Anwendung dieser speziellen immunhistochemischen Reaktion der endgültige Funktionsverlust von Nervenzellen in Einzelfällen nicht fassbar ist. Eine sichere morphologische Nachweismethode des Hirntodes ist somit durch den immunhistochemischen Nachweis der MAP2-Reaktion nicht gegeben - jedoch sind berechnigte Zweifel an einer

grundlegenden, permanenten oder transienten global-ischämischen Schädigungskomponente in Fällen eines Hirntodes berechtigt.

ad 3. Sämtliche neuropathologische Veränderungen wurden mit „Zeitintervallen“ korreliert, um die Möglichkeit einer morphologisch-retrospektiven Annäherung an den „Zeitpunkt des Hirntodes“ zu überprüfen. Es wurden das Zeitintervall von der ursächlichen Hirnschädigung bis zur ersten klinischen Hirntod-Diagnostik (A-B) und von der ersten klinischen Hirntod-Diagnostik bis zur Beendigung der Beatmung (B-C) sowie das gesamte Zeitintervall von ursächlicher Hirnschädigung bis zur Beendigung der Beatmung (A-C) einer separaten Analyse unterzogen.

Ergebnisse: Auch unter zeitlichen Aspekten ist die Vielfältigkeit und die wechselnde Ausprägung der pathomorphologischen Befunde offensichtlich. Diese Variabilität ist sowohl in kurzen, als auch in längeren Zeitintervallen vorhanden und in sämtlichen Vergleichsstudien mehr oder weniger ausgeprägt. Vor allem in eigenen Untersuchungen konnten schwerste Hirnschädigungen bereits nach vergleichsweise kurzen Hirntodzeiten ($B-C \leq 12$ Stunden) nachgewiesen werden, zu keinem Zeitpunkt jedoch in 100% der Fälle. Die geringste Expression von MAP2 konnte tatsächlich den jeweils längsten Zeitintervallen zugeordnet werden. Der Zeitpunkt der klinisch-funktionellen Hirntod-Diagnostik stellt sich dagegen vollkommen unabhängig von morphologischen Kriterien dar.

Der „*Ausfall aller Funktionen des Großhirns, Kleinhirns und Hirnstamms*“ (WB-BÄK 1998) ist neuropathologisch mit den bisher zur Verfügung stehenden Methoden - zumindest bei einer frühzeitigen Diagnostik - nicht zuverlässig feststellbar. Eine möglichst präzise, retrospektiv-morphologische Evaluation eines Todeszeitpunktes ist vor dem Hintergrund vielfältiger, pathogenetischer Einflussfaktoren und auf der Grundlage des ausschließlich über funktionelle Kriterien definierte Todeskriterium ganz einfach unmöglich.

6. Literaturverzeichnis

1. Abe K, Aoki M, Kawagoe J, Yoshida T, Hattori A, Kogure K, Itoyama Y (1995): Ischemic delayed neuronal death. A mitochondrial hypothesis. *Stroke* 26(8): 1478-1489.
2. Academy of Medical Royal Colleges (2008): A Code of Practice for the Diagnosis and Confirmation of Death, (Academy of Medical Royal Colleges, 70 Wimpole Street, London, W1G 8AX).
3. Ad Hoc Committee of the Harvard Medical School to Examine the Definition of Brain Death (1968): A definition of irreversible Coma. *JAMA* 205(6): 337-340.
4. Adams JH (1976): The "Respirator Brain". *Arch Neurol* 33: 589.
5. Adams RD, Jéquier M (1960): The brain death syndrome. Hypoxemic Panencephalopathy. *Schweiz med Wschr* 99: 65-73.
6. Akulinin VA, Dahlstrom A (2003): Quantitative analysis of MAP2 immunoreactivity in human neocortex of three patients surviving after brain ischemia. *Neurochem Res* 28(2): 373-378.
7. al-Ali SY, al-Hussain SM (1996): An ultrastructural study of the phagocytic activity of astrocytes in adult rat brain. *J Anat* 188(2): 257-262.
8. Alam HB, Chen Z, Ahuja N, Chen H, Conran R, Ayuste EC, Toruno K, Ariaban N, Rhee P, Nadel A, Koustova E (2005): Profound hypothermia protects neurons and astrocytes, and preserves cognitive functions in a Swine model of lethal hemorrhage. *J Surg Res* 126(2): 172-181.
9. Ali DW, Salter MW (2001): NMDA receptor regulation by Src kinase signaling in excitatory synaptic transmission and plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 11: 336-342.
10. Allen N, Burkholder J, Comiscioni J (1978): Clinical criteria of brain death. *Ann NY Acad Sci* 315: 70-96.
11. Alvarez LA, Lipton RB, Hirschfeld A, Salamon O, Lantos G (1988): Brain Death Determination by Angiography in the Setting of a Sull Defect. *Arch Neurol* 45(2): 225-227.
12. Angstwurm H (1993): Das Absterben des gesamten Gehirns während der Intensivbehandlung. *Zschr für med Ethik* 39; 186-190.
13. Angstwurm H (1997): Stellungnahme zum TPG. Ausschussdrucksache. 13/173. S. 6.
14. Angstwurm H (2000): Der Hirntod als sicheres Todeszeichen des Menschen und als eine Voraussetzung der Organentnahme. In: Firnkorn H-J: Hirntod als Todeskriterium, S. 7. Schattauer Verlag, Stuttgart.
15. Angstwurm H, Kugler J (1978): Ärztliche Aspekte des Hirntodes und Feststellung des Todeszeitpunktes. *Fortschr Neurol Psychiatr* 46: 297-311.
16. Ankarcrona M, Dypbukt JM, Bonfoco E, Zhivotovsky B, Orrenius S, Lipton SA, Nicotera P (1995): Glutamate-induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function. *Neuron* 15(4): 961-973.
17. Arnold H (1976): Hirntod. *Nervenarzt* 47, 529-537.
18. Assmann J (1999): Das kulturelle Gedächtnis, Schrift, Erinnerung und politische Identität in frühen Hochkulturen, S. 48. C.H. Beck Verlag, München.
19. Astrup J, Siesjö BK, Symon L (1981): Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke* 12: 723-725.

20. Auer RN, Siesjö BK (1988): Biological differences between ischemia, hypoglycemia and epilepsy. *Ann Neurol* 24: 699-707.
21. Auer RN, Jensen ML, Whishaw IQ (1989): Neurobehavioral deficit due to ischemic brain damage limited to half of the CA1 sector of the hippocampus. *J Neurosci* 9(5): 1641-1647.
22. Balkenohl M (1998): Ist der sogenannte ‚Hirntod‘ der Tod des Menschen? In: Bäumer R, von Stockhausen A (Hrsg): *Zur Problematik von Hirntod und Transplantation*, 47-61. Gustav-Siewerth-Akademie. Weilheim-Bierbrunn.
23. Baron L, Shemie SD, Teitelbaum J, Doig CJ (2006): History, concept and controversies in the neurological determination of death. *Can J Anesth* 53 (6): 602-608.
24. Barzo P (1996): Physiology of Cerebral Blood Flow. In: Palmer JD (Hrsg.): *Manual of Neurosurgery*, 365-372. Churchill Livingstone, New York.
25. Behr R, Schlake HP, Roosen K, Schober O (1993): Stellenwert apparativer Untersuchungen bei der Hirntoddiagnostik. *Med Welt* 44: 501-509.
26. Bell BA, Syman L, Branston NM (1985): CBF and time thresholds for the formation of ischemic cerebral edema, and effect of reperfusion in baboons. *J Neurosurg* 62: 31-41.
27. Benquet P, Gee CE, Gerber U (2008): Transient brain ischemia: NMDA receptor modulation and delayed neuronal death. *Med Sci (Paris)* 24(2): 185-190.
28. Bernat JL (1992): Brain death occurs only with destruction of the cerebral hemispheres and the Brain Stem. *Arch Neurol* 49: 569-570.
29. Bernaudin M, Nouvelot A, MacKenzie ET, Petit E (1998): Selective neuronal vulnerability and specific glial reactions in hippocampal and neocortical organotypic cultures submitted to ischemia. *Exp Neurol* 150: 30-39.
30. Bertels A (2002): *Der Hirntod des Menschen - Medizinische und ethische Aspekte*. Dissertation der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.
31. Bertrand I, Lhermitte F, Antoine B, Ducrot H (1959): Nécroses massives du système nerveux central dans une survie artificielle. *Rev Neurol* 101: 101-115.
32. Black PM (1978a): Brain death (First of two parts). *N Engl J Med* 299(7): 338-344.
33. Black PM (1978b): Brain death (Second of two parts). *N Engl J Med* 299(8): 393-401.
34. Blomgren K, McRae A, Elmered (1997): The calpain proteolytic system in neonatal hypoxic-ischemia. *Ann N Y Acad Sci* 825: 104-119.
35. Bonde C, Norberg J, Zimmer J (2002): Nuclear shrinkage and other markers of neuronal cell death after oxygen-glucose deprivation in rat hippocampal slice cultures. *Neurosci Lett* 327(1): 49-52.
36. Böck P (1989): *Romeis mikroskopische Technik*. Urban und Schwarzenberg, München.
37. Bonde C, Norberg J, Zimmer J (2002): Nuclear shrinkage and other markers of neuronal cell death after oxygen-glucose deprivation in rat hippocampal slice cultures. *Neurosci Lett* 327(1): 49-52.
38. Bonde C, Norberg J, Noer H, Zimmer J (2005): Ionotropic glutamate receptors and glutamate transporters are involved in necrotic neuronal cell death induced by oxygen-glucose deprivation of hippocampal slice cultures. *Neuroscience* 136(3): 779-794.
39. Bonfoco E, Krainc D, Ankarcrona M, Nicotera P, Lipton SA (1995): Apoptosis and necrosis: two distinct events induced, respectively, by mild and intense insults with N-methyl-D-aspartate or nitric oxide/superoxide in cortical cell cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92(16): 7162-7166.

40. Boyd, E (1952): An Introduction to human biology and anatomy for first year medical students. Child Research Council, Denver, Colorado. In: Altmann und Dittmer (Hrsg., 1962): Growth, including Reproduction and Morphological Development, S.346. Biological Handbooks, Federation of American Societies for Experimental Biology, Washington.
41. Braun J (1982): Die klinischen Kriterien des Hirntodes. *Nervenarzt* 53: 654-658.
42. Brihaye J, Frowein RA, Lindgren S et al. (1978): Report on the meeting of the W.E.N.S. Neuro-Traumatology Committee, Brussels, 19.-23.09.1976. *Acta Neurochir (Wien)* 40: 181-6.
43. Bücheler E, Käufer C, Penin H (1973): Transfemorale zerebrale Katheterangiographie beim Hirntod. In: Krösl W, Scherzer E (Hrsg.): Die Bestimmung des Todeszeitpunktes, 155-161. Wilhelm Maudrich Verlag, Wien.
44. Burkhart KK, Beard DC, Lehman RA, Billingsley ML (1998): Alterations in tau phosphorylation in rat and human neocortical brain slices following hypoxia and glucose deprivation. *Exp Neurol* 154(2): 464-472.
45. Busl KM, Greer DM (2009): Pitfalls in the Diagnosis of Brain Death. *Neurocrit Care* 11(2): 276-287.
46. Büttner R, Thomas C (2003): Allgemeine Pathologie. 3. Aufl., Schattauer Verlag, Stuttgart.
47. Cassimeris L, Spittle C (2001): Regulation of microtubule-associated proteins. *Int Rev Cytol* 210: 163-226.
48. Castillo MR, Babson JR (1998): Ca²⁺-dependent mechanisms of cell injury in cultured cortical neurons. *Neuroscience* 86(4): 1133-1144.
49. Chang L, Jones Y, Ellisman MH, Goldstein LSB, Karin M (2003): JNK1 Is Required for Maintenance of Neuronal Microtubules and Controls Phosphorylation of Microtubule-Associated Proteins. *Developmental Cell* 4: 521-533.
50. Chiappa KH (1990): Evoked potentials in clinical medicine. 2. Aufl. Raven Press, New York: 424-426.
51. Cobb MH, Xu S, Hepler JE, Hutchinson M, Frost J, Robbins DJ (1994): Regulation of the MAP kinase cascade. *Cell Mol Biol Res* 40: 253-156.
52. Couchie D, Fages C, Bridoux AM, Rolland B, Tardy M, Nunez J (1985): Microtubule-associated proteins and in vitro astrocyte differentiation. *J Cell Biol* 101(6): 2095-2103.
53. Cowley S, Paterson H, Kemp P, Marshall CJ (1994): Activation of MAP kinase kinase is necessary and sufficient for PC12 differentiation and for transformation of NIH 3T3 cells. *Cell* 77: 841-852.
54. Cronberg T, Jensen K, Rytter A, Wieloch T (2005): Selective sparing of hippocampal CA3 cells following in vitro ischemia is due to selective inhibition by acidosis. *Eur J Neurosci* 22(2): 310-316.
55. Däubler-Gmelin H (1997): Plenarprotokoll der 183. Sitzung des Deutschen Bundestages vom 25.06.1997, 13/183.SdBT:16424. In: Petersen IF (2002): Grenzkonflikte um Person und Leben. Kulturelle Wissensstrukturen in den Parlamentsdebatten zum Embryonenschutzgesetz und Transplantationsgesetz, 235. Dissertation zur Erlangung des sozialwissenschaftlichen Doktorgrades der Sozialwissenschaftlichen Fakultät, Göttingen.
56. Davare MA, Dong F, Rubin CS, Hell JW (1999): The A-kinase anchor protein MAP2B and cAMP-dependent protein kinase are associated with class C L-type calcium channels in neurons. *J Biol Chem* 274(42): 30280-30287.
57. Dawson DA, Hallenbeck JM (1996): Acute focal ischemia-induced alterations in MAP2 immunostaining: description of temporal changes and utilization as a marker for volumetric assessment of acute brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 16(1): 170-174.
58. De Jong RN, Itabashi HH, Olson JR (1969): Memory loss due to hippocampal lesions. Report of a case. *Arch Neurol* 20(4): 339-348.

-
59. De Keyser J, Sulter G, Luiten PG (1999): Clinical trials with neuroprotective drugs in acute ischaemic stroke: are we doing the right thing? *Trends Neurosci* 22(12): 535-540.
 60. Dehmelt L, Halpain S (2004): The MAP2/Tau family of microtubule-associated proteins. *Genome Biology* 6(1): Artikel 204.
 61. Deutsch E (2008): Extremsituationen: Notfall, Intensivmedizin, Sterbehilfe, Todeszeitpunkt, Sektion: Tod und Todeszeit. In: Deutsch E, Spickhoff A (Hrsg.): *Medizinrecht: Arztrecht, Arzneimittelrecht, Medizinprodukterecht und Transfusionsrecht*, 445-455. 6. Aufl. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
 62. Deutsche Gesellschaft für Chirurgie, Kommission für Reanimation und Organtransplantation (1968): Todeszeichen und Todeszeitbestimmung. *Der Chirurg* 39: 196-197.
 63. Deutsches Ärzteblatt 17 (2009): Organspende, Geschichten „Fürs Leben“. Jg 106, Heft 17 vom 24.04.2009: 706.
 64. Diaz-Bone R, Schneider W (2008): Qualitative Datenanalysesoftware in der sozialwissenschaftlichen Diskursanalyse - Zwei Praxisbeispiele, S. 516. In: Keller R, Hirsland A, Schneider W, Viehöver W (Hrsg.): *Handbuch Sozialwissenschaftliche Diskursanalyse, Band 2: Forschungspraxis*. 3. Aufl. VS Verlag für Sozialwissenschaften, Wiesbaden.
 65. Dimopoulou I, Korfiatis S, Dafni U, Anthi A, Psachoulia C, Jullien G, Sakas DE, Roussos C (2003): Protein S-100b serum levels in trauma-induced brain death. *Neurology* 60: 947-951.
 66. Dirnagl U, Meisel A (1999): Zerebrale Ischämie. In: Ganten D und Ruckpaul K (1999): *Erkrankungen des Zentralnervensystems*, 510-542. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
 67. Dietrich PY, Walker PR, Saas P (2003): Death receptors on reactive astrocytes: A key role in the fine tuning of brain inflammation? *Neurol* 60: 548-554.
 68. Doede T (2009): Organspender 2009 in Schleswig-Holstein: Organspender werden weiterhin dringend benötigt. *Schleswig-Holsteinisches Ärzteblatt* 10, 62: 32-33.
 69. Doetsch F, Caille I, Lim DA, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A (1999). Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell* 97: 1-20.
 70. Doll T, Meichsner M, Riederer BM, Honegger P, Matus A (1993): An isoform of microtubule-associated protein 2 (MAP2) containing four repeats of the tubulin-binding motif. *J Cell Sci* 106 (2): 633-9.
 71. Dudziak R, Herrmann HD, Jerusalem F, Kuschinsky W (1994): Erklärung Deutscher Wissenschaftlicher Gesellschaften zum Tod durch völligen und endgültigen HirnAusfall. „Hirntod“. (Hrsg.: Deutsche Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Deutsche Gesellschaft für Neurochirurgie, Deutsche Gesellschaft für Neurologie, Deutsche Physiologische Gesellschaft). 1. Aufl. 50 Oe, S. 7. http://www.dgnc.de/htm/02/text02_1.html (Zugriff am 17.10.09).
 72. Duven HE, Kollrack HW (1970): Areflexie: Kein obligates Symptom bei dissoziiertem Hirntod. *Dtsch med Wschr* 95: 1346-1348.
 73. Eguchi Y, Yamashita K, Iwamoto T, Ito H (1997): Effects of brain temperature on calmodulin and microtubule-associated protein 2 immunoreactivity in the gerbil hippocampus following transient forebrain ischemia. *J Neurotrauma* 14(2): 109-118.
 74. Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL (2000): Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochem Res* 25, 1439-1451.
 75. Escudero D, Otero J, Marqués L, Parra D, Gonzalo JA, Albaiceta GM, Cofiño L, Blanco A, Vega P, Murias E, Meilan A, Roger RL, Taboada F (2009): Diagnosing Brain Death by Perfusion and Multislice CT Angiography. *Neurocrit Care* 11(2): 261-271.

76. Evers P, Uylings HB (1997): An optimal antigen retrieval method suitable for different antibodies on human brain tissue stored for several years in formaldehyde fixative. *J Neurosci Methods* 72: 197-207.
77. Facco E, Casartelli Liviero M, Munari M, Toffoletto F, Baratto F, Giron GP (1990): Short latency evoked potentials: new criteria for brain death? *J of Neurol, Neurosurg and Psych* 53: 351-353.
78. Favre J (1996): Physiology of Cerebral Blood Flow. In: Palmer JD (Hrsg.): *Manual of Neurosurgery*, 365-372. Churchill Livingstone, New York.
79. Ferrer I, Planas AM (2003): Signaling of cell death and cell survival following focal cerebral ischemia: life and death struggle in the penumbra. *J Neuropathol Exp Neurol* 62(4): 329-339.
80. Fiore RS, Bayer VE, Pelech SL, Posada J, Cooper JA, Baraban JM (1993a): p42 mitogen-activated protein kinase in brain: prominent localization in neuronal cell bodies and dendrites. *Neuroscience*, 55: 463-472.
81. Fiore RS, Murphy TH, Sanghera JS, Pelech SL, Baraban JM (1993b): Activation of p42 mitogen-activated protein kinases by glutamate receptor stimulation in rat primary cortical cultures. *J Neurochem*, 61: 1626-1633.
82. Flemming I, Zettler H, Schädlich M (1974): Zu Fragen des Hirntodes. *Psychiatrie, Neurologie und medizinische Psychologie* 26: 641-651.
83. Frewer RA (1999): Tagungsberichte, 30 Jahre Hirntod-Definition - Historische und ethische Aspekte, Bad Homburg, 23. - 25. November 1998. *Ethik Med* 11, 114-123.
84. Frowein RA (1973): Diskussionsbemerkung. In: Krösl W, Scherzer E (Hrsg.): *Die Bestimmung des Todeszeitpunktes*, 345-346. Wilhelm Maudrich Verlag, Wien.
85. Frowein RA, Euler KH, Karimi-Nejad A (1964): Grenzen der Wiederbelebung bei schweren Hirntraumen. *Langenb Arch Klin Chirurgie* 308: 276-281.
86. Frowein RA, Richard KE, Hamel E (1985): Probleme des Hirntodes. In: Gänshirt H, Berlit P, Haak G (Hrsg.) *Kardiovaskuläre Erkrankungen und Nervensystem, Neurotoxikologie, Probleme des Hirntodes*, 543-554. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.
87. Geddes JW, Schwab C, Craddock S, Wilson JL, Pettigrew LC (1994): Alterations in tau immunostaining in the rat hippocampus following transient cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 14: 554-564.
88. Gee CE, Benquet P, Raineteau O, Rietschin L, Kirbach SW, Gerber U (2006): NMDA receptors and the differential ischemic vulnerability of hippocampal neurons. *Eur J Neurosci* 23(10): 2595-2603.
89. Geisert EE Jr, Johnson HG, Binder LI (1990): Expression of microtubule-associated protein 2 by reactive astrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 87(10): 3967-3971.
90. Gerstenbrand F (1669): Diskussionsbeitrag. In: Penin H, Käufer C (Hrsg.): *Der Hirntod*, S.45. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
91. Gilland E, Bona E, Hagberg H (1998): Temporal changes of regional glucose use, blood flow, and microtubule-associated protein 2 immunostaining after hypoxia-ischemia in the immature rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 18(2): 222-228.
92. Gold S, Schulz KH, Koch U (2001): Der Organspendeprozess: Ursachen des Organmangels und mögliche Lösungsansätze. In: Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung, Forschung und Praxis der Gesundheitsförderung. Band 13. Köln.
93. Goldstein LS, Yang Z (2000): Microtubule-based transport systems in neurons: the roles of kinesins and dyneins. *Annu Rev Neurosci*, 23: 39-71.
94. Götz E, Oppel F, Hacke W, Hoppe JD, Sewing KF (2001): Erklärung zum Hirntod. Bekanntgaben der Herausgeber: Bundesärztekammer. *Dtsch Ärztebl* 98(21): A-1417, B-1203, C-1131.

95. Goyert SM (1997): MC12, CD68 workshop panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M (Hrsg.): Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 6th International Workshop and Conference, 10-14.11.1996, Kobe, Japan. Garland Publishing Inc, New York, London: 1997; 1015-1016.
96. Grady MS, Charleston JS, Maris D, Witgen BM, Lifshitz J (2003): Neuronal and glial cell number in the hippocampus after experimental traumatic brain injury: analysis by stereological estimation. *J Neurotrauma* 20(10): 929-941.
97. Greenamyre JT, Olson JM, Penney JB Jr, Young AB (1985): Autoradiographic characterization of N-methyl-D-aspartate-, quisqualate- and kainate-sensitive glutamate binding sites. *J Pharmacol Exp Ther* 233(1): 254-263.
98. Greenberg MS (2006): *Handbook of Neurosurgery*. Sechste Ausgabe. Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
99. Greer DM, Varelas PN, Haque S, Wijdicks EFM (2008): Variability of brain death determination guidelines in leading US neurologic institutions. *Neurology* 70: 284-289.
100. Grewel H (1995): Gesellschaftliche und Ethische Implikationen der Hirntodkonzeption, 332-349. In: Hoff J, in der Schmitt J (Hrsg.) Wann ist der Mensch tot? Organverpflanzung und „Hirntod“-Kriterium. Rowohlt Verlag GmbH, Reinbek bei Hamburg.
101. Grishin AA, Gee CE, Gerber U, Benquet P (2004): Differential Calcium-Dependent Modulation of NMDA Currents in CA1 and CA3 Hippocampal Pyramidal Cells. *The Journal of Neuroscience* 24(2): 350 -355.
102. Grishin AA, Benquet P, Gerber U (2005): Muscarinic receptor stimulation reduces NMDA responses in CA3 hippocampal pyramidal cells via Ca²⁺-dependent activation of tyrosine phosphatase. *Neuropharma* 49(3): 328-337.
103. Grote J (1995): Gewebeatmung. In: Schmidt RF, Thews G (Hrsg.): *Physiologie des Menschen*, 624-637. 26. Aufl., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
104. Haines DE (1991): *Neuroanatomy: An Atlas of Structures, Sections, and Systems*, 3. Aufl. Urban & Schwarzenberg, Baltimore.
105. Halpain S, Greengard P (1990): Activation of NMDA receptors induces rapid dephosphorylation of the cytoskeletal protein MAP2. *Neuron*, 5(3): 237-246.
106. Harada A, Teng J, Takei Y, Oguchi K, Hirokawa N (2002): MAP2 is required for dendrite elongation, PKA anchoring in dendrites, and proper PKA signal transduction. *J Cell Biol*, 158: 541-549.
107. Harding B, Copp AJ (1997): Malformations. In: Graham DI, Lantos PL (Hrsg.): *Greenfield's neuropathology*, 397-533. 6. Auflage, Vol. 1, Arnold, London.
108. Haupt WF, Rudolf J (1999): European brain death codes: a comparison of national guidelines. *J Neurol* 246: 432-437.
109. Haupt WF, Schober O, Angstwurm H, Kunze K (1993): Die Feststellung des Todes durch den irreversiblen Ausfall des gesamten Gehirns („Hirntod“). Wertigkeit technischer Methoden zur Bestätigung der klinischen Zeichen. *Dtsch Ärzteblatt* 90: B2222-2225.
110. Heckmann JG, Lang CJG, Hauser I (1996): Hirntoddiagnostik im Einzugsgebiet der Neurologischen Universitätsklinik Erlangen von 1984 bis 1994. *Dtsch Med Wochenschr* 121: 1349-53.
111. Heran MK, Heran NS, Shemie SD (2008): A review of ancillary tests in evaluating brain death. *Can J Neurol Sci* 35(4): 409-419.
112. Hintze P (1997): Plenarprotokoll der 183. Sitzung des Deutschen Bundestages (13/183.SdBT:16442f) vom 25.06.1997.

113. Hirokawa N (1994): Microtubule organization and dynamics dependent on microtubule-associated proteins. *Curr Opin Cell Biol* 6: 74-81.
114. Hirsch H, Euler KH, Schneider M (1957): Über die Erholung und Wiederbelebung des Gehirns nach Ischämie bei Normothermie. *Pflügers Arch* 265: 281-313.
115. Hoff J, in der Schmitten J (1995): Kritik der „Hirntod“-Konzeption. Plädoyer für ein menschenwürdiges Todeskriterium, 153-252. In: Hoff J, in der Schmitten J (Hrsg.) *Wann ist der Mensch tot? Organverpflanzung und „Hirntod“-Kriterium*. Rowohlt Verlag GmbH, Reinbek bei Hamburg.
116. Holczabek W (1973): Gerichtsmedizinische Aspekte des dissoziierten Hirntodes. In: Krösl W, Scherzer E (Hrsg.): *Die Bestimmung des Todeszeitpunktes*, 267-270. Maudrich, Vienna.
117. Hollenbeck M, Wöbker G, Herdmann J, Hetzel GR, Grabensee B (1996): Transplantationen: Gesellschaftliche und organisatorische Aspekte des Organspendermangels. *DÄ 93*, Heft 17 vom 26.04.1996, C-781-783.
118. Honnefelder L (2000): Ethische Beurteilung des Organtransplantationsgesetzes. In: Firnkorn H-J: *Hirntod als Todeskriterium*, 32-35. Schattauer Verlag, Stuttgart.
119. Hsu SM, Raine L (1981): Protein A, avidin and biotin in immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem*, 29: 1349-1353.
120. Hughes (1978): Diskussionsbeitrag. In: *Pathology of brain death*. Walker AE. *Ann NY Acad Sci* 315: 279.
121. Huh JW, Raghupathi R, Laurer HL, Helfaer MA, Saatman KE (2003): Transient loss of microtubule-associated protein 2 immunoreactivity after moderate brain injury in mice. *J Neurotrauma* 20(10): 975-984.
122. Ingvar DH (1973): Bestimmung des Sistierens der Gehirnzirkulation bei Hirntod. In: *Die Bestimmung des Todeszeitpunktes*, 195-198. Krösl W, Scherzer E. (Hrsg.), Wilhelm Maudrich Verlag, Wien.
123. Inuzuka T, Tamura A, Sato S, Kirino T, Yanagisawa K, Toyoshima I, Miyatake T (1990): Changes in the concentrations of cerebral proteins following occlusion of the middle cerebral artery in rats. *Stroke* 21(6): 917-922.
124. Ito U, Spatz M, Walker JT, Klatzo I (1975): Experimental cerebral ischemia in mongolian gerbils. I. Light microscopic observations. *Acta Neuropathol* 32: 209-223.
125. Jabre A, Bao Y, Spatz EL (2000): BrainPH monitoring during ischemia. *Surg Neurol* 54: 55-58.
126. Janeczko K (1989): Spatiotemporal patterns of the astroglial proliferation in rat brain injured at the postmitotic stage of postnatal development: a combined immunocytochemical and autoradiographic study. *Brain Res* 485(2): 236-243.
127. Janzen RWC, Hohnstädt P, Lachenmayer L, Rohr W, Neunzig HP (1985): Neurologische Symptome bei Manifestation des Hirntodes. In: Gänshirt H, Berlit P, Haack G (Hrsg.): *Kardiovaskuläre Erkrankungen und Nervensystem, Neurotoxikologie, Probleme des Hirntodes*, 582-586. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.
128. Jellinger K (1968): Zur Neuropathologie des Komas und postkomatöser Encephalopathien. *Wien Klin Wschr* 80: 505-516.
129. Johnson GV, Jope RS (1992): The role of microtubule-associated protein 2 (MAP2) in neuronal growth, plasticity and degeneration. *J Neurosci Res* 33: 505-12.
130. Johnson GV, Litsky JM, Jope RS (1991): Degradation of microtubule-associated protein 2 and brain spectrin by calpain: a comparative study. *J Neurochem* 56: 1630-1638.
131. Johnston HM, Morris BJ. (1994): Selective regulation of dendritic MAP2 mRNA levels in hippocampal granule cells by nitric oxide. *Neurosci Lett* 177: 5-10.

132. Jonas H (1987): Gehirntod und menschliche Organbank: Zur pragmatischen Umdefinierung des Todes. In: Jonas H (Hrsg.): Technik. Medizin und Ethik. Zur Praxis des Prinzips Verantwortung, 219-242. Suhrkamp Taschenbuch Verlag, Frankfurt am Main.
133. Jørgensen EO (1973): Aortocervical, internal carotid and vertebral angiography in total cerebral infarction. *Acta radiologica* 14: 369-378.
134. Jørgensen MB (1993): The role of signal transduction in the delayed necrosis of the hippocampal CA1 pyramidal cells following transient ischemia. *Acta Neurol Scand Suppl* 143: 1-20.
135. Jørgensen PB, Jørgensen EO, Rosenklint A (1973): Brain death pathogenesis and diagnosis. *Acta Neurol Scand* 49: 355-367.
136. Jouvett M (1959): Diagnostique électro-sous-cortico-graphique de la mort du système nerveux central au cours de certain comas. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 11: 805-808.
137. Junge T (1999): Die Okkupation des Fleisches – zur Gegenwart der Transplantationsmedizin. Interdisziplinäre, internationale Graduiertenkonferenz an der Friedrich-Alexander Universität Erlangen / Nürnberg.
138. Kalcheva N, Albala JS, Binder LI, Shafit-Zagardo B (1994): Localisation of specific epitopes on human microtubule-associated protein 2. *J Neurochem*, 63: 2336-2341.
139. Kalimo H, Olsson Y, Paljarvi L, Soderfeldt B (1982): Structural changes in brain tissue under hypoxic-ischemic conditions. *J Cereb Blood Flow Metab* 2 Suppl 1: 19-22.
140. Kan RK, Pleva CM, Hamilton TA, Petralli JP (2005): Immunolocalization of MAP-2 in routinely formalin-fixed, paraffin-embedded guinea pig brain sections using microwave irradiation: a comparison of different combinations of antibody clones and antigen retrieval buffer solutions. *Microsc Microanal* 11: 175-180.
141. Käufer C (1971): Die Bestimmung des Todes bei irreversiblen Verlust der Hirnfunktionen. Dr. Alfred Hüthig Verlag, Heidelberg.
142. Kehl F, Schlote W (1993): Neuropathology of brain death - facts and fiction, 38th Annual Meeting of the Deutsche Gesellschaft für Neuropathologie und Neuroanatomie, Vortrag, *Clinical Neuropathology* 12 (5): 252.
143. Kempfski O (2005): Schädigungsmechanismen beim SHT, Mitochondrien als Schaltstellen des neuronalen Überlebens. In: Wallesch CW, Unterberg A, Ditz V (Hrsg.): *Neurotraumatologie*, 6-16. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
144. Kimelberg HK, Rutledge E, Feustel PJ (1997): Cell swelling and effects of alcohol in experimental neural trauma. In: Oehmichen M, König HG (Hrsg): *Neurotraumatology - biomechanic aspects, cytologic and molecular mechanisms*: 295-315. Schmidt-Römhild, Lübeck.
145. Kirino T (1982): Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res* 239: 57-69.
146. Kirino T, Sano K (1984): Selective vulnerability in the gerbil hippocampus following transient ischemia. *Acta Neuropathol* 62: 201-208.
147. Kitagawa K, Matsumoto M, Niinobe M et al. (1989): Microtubule-associated protein 2 as a sensitive marker for cerebral ischemic damage--immunohistochemical investigation of dendritic damage. *Neuroscience*, 31: 401-411.
148. Kitamura O, Gotohda T, Ishigami A, Tokunaga I, Kubo S, Nakasono I (2005): Effect of hypothermia on postmortem alterations in MAP2 immunostaining in the human hippocampus. *Leg Med (Tokyo)* 7: 340-344.
149. Klatzo I (1967): Neuropathological aspects of brain edema. *J Neuropathol Exp Neurol* 26: 1-14.

150. Klatzo I, Miquel J, Tobias C, Haymaker W (1961): Effects of alpha particle radiation on the rat brain, including vascular permeability and glycogen studies. *J Neuropathol Exp Neurol* 20: 459-483.
151. Klein M (1995): „Hirntod“: Vollständiger Verlust aller Hirnfunktionen? 500-506. In: Hoff J, in der Schmitten J (Hrsg.) Wann ist der Mensch tot? Organverpflanzung und „Hirntod“-Kriterium. Rowohlt Verlag GmbH, Reinbek bei Hamburg.
152. Kleindienst A, Haupt FW, Hildebrandt G (1999): Brain Death and Organ Donation in Germany: Analysis of Procurement in a Neurosurgical Unit and Review of Press Reports. *Acta Neurochir (Wien)* 141: 641-646.
153. Knoche (1996): Plenarprotokoll der 99. Sitzung des Deutschen Bundestages (13/99.SdBT:8825) vom 19.04.1996. In: Petersen IF (2002): Grenzkonflikte um Person und Leben. Kulturelle Wissensstrukturen in den Parlamentsdebatten zum Embryonenschutzgesetz und Transplantationsgesetz, 235. Dissertation zur Erlangung des sozialwissenschaftlichen Doktorgrades der Sozialwissenschaftlichen Fakultät, Göttingen.
154. Korein J (1978a): Terminology, Definitions, and Usage. *Ann NY Acad Sci* 315: 6-10.
155. Korein J (1978b): Kommentar in: Walker AE (1978): Pathology of brain death. *Ann NY Acad Sci* 315: 272-280.
156. Kotecha SA, MacDonald JF (2003): Signaling molecules and receptor transduction cascades that regulate NMDA receptor-mediated synaptic transmission. *Int Rev Neurobiol* 54: 51-106.
157. Kotecha SA, Jackson MF, Al Mahrouki AA, Roder JC, Orser BA, MacDonald JF (2003): Co-stimulation of mGluR5 and NMDA receptors is required for potentiation of excitatory synaptic transmission in hippocampal neurons. *J Biol Chem* 278: 27742-27749.
158. Kramer W (1963): From reanimation to deanimation. Intravital death of the brain during artificial respiration. *Acta neurol scand* 39: 139-153.
159. Kramer W (1973): Neuropathologische Befunde nach intravitalem Hirntod. In: Krösl W, Scherzer E (Hrsg.): Die Bestimmung des Todeszeitpunktes, 223-231. Wilh. Maudrich Verlag, Wien.
160. Kretschmann HJ, Weinreich W (2002): Klinische Neuroanatomie und kraniale Bilddiagnostik; Atlas der Computertomographie und Magnetresonanztomographie, 3. Aufl. Thieme Verlag, Stuttgart.
161. Krösl W, Scherzer E (1973): Die Bestimmung des Todeszeitpunktes. Wilhelm Maudrich Verlag, Wien.
162. Kubo S, Kitamura O, Orihara Y, Ogata M, Tokunaga I, Nakasono I (1998): Immunohistochemical diagnosis and significance of forensic neuropathological changes. *J Med Invest* 44(3-4): 109-119.
163. Kühn J, Meissner C, Oehmichen M (2005): Microtubule-associated protein 2 (MAP2) - a promising approach to diagnosis of forensic types of hypoxia-ischemia. *Acta Neuropathol* 110: 579-586.
164. Küper M (2008): Charakterisierung humaner hippocampaler Astrozytenvorläuferzellen in Langzeitkultur zur Anwendung in der ex vivo Gentherapie. Inaugural-Dissertation aus dem Institut für Anatomie, Medizinische Fakultät, Universität zu Köln. Philipps-Universität Marburg.
165. Kwei S, Jiang C, Haddad GG (1993): Acute anoxia-induced alterations in MAP2 immunoreactivity and neuronal morphology in rat hippocampus. *Brain Res*, 620(2): 203-210.
166. (van) Landeghem FK, Weiss T, Oehmichen M, von Deimling A (2006): Decreased expression of glutamate transporters in astrocytes after human traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 23(10): 1518-1528.
167. Langfitt TW, Weinstein JD, Kassell NF (1965): Cerebral vasomotor paralysis produced by intracranial hypertension. *Neurology* 15: 622-641.
168. Lanz T, Lang J, Wachsmuth W (2004): Praktische Anatomie. Kopf: Gehirn- und Augenschädel: Ein Lehr- und Hilfsbuch der Anatomischen Grundlagen ärztlichen Handelns. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

-
169. Lassen N, Astrup J (1990): Cerebral blood flow: Normal regulation of ischemic thresholds. In: Weinstein P, Faden AI (Hrsg.): *Protection of the Brain from Ischemia*, 7. Williams & Wilkins, Baltimore.
170. Leder LD (1969): Über die selektive fermentcytochemische Darstellung von myeloischen Zellen und Gebismastzellen. *Klin Wschr*, 42: 553.
171. Leder LD (1979): The chloroacetate esterase reaction. A useful means of histological diagnosis of haematological disorders from paraffin sections of skin. *Am J Dermatopathol*, 1: 39-42.
172. Lee JM, Grabb MC, Zipfel GJ, Choi DW (2000): Brain tissue responses to ischemia. *J Clin Invest* 106: 723-31.
173. Leestma J, Hughes J, Diamond E (1984): Temporal correlates in brain death. EEG and clinical relationships to the respirator brain. *Arch Neurol* 41: 147-152.
174. Lehmann K (1996): Stellungnahme der Deutschen Bischofskonferenz zum Thema Organtransplantation vom 10.1.1996 in Mainz. Zitiert nach: Seehofer H, Plenarprotokoll der 99. Sitzung des Deutschen Bundestages (13/99.SdBT:8833) vom 19.04.1996.
175. Leifer D, Kowall NW (1993): Immunohistochemical patterns of selective cellular vulnerability in human cerebral ischemia. *J Neurol Sci* 119: 217-228.
176. Leterrier JF, Kurachi M, Tashiro T, Janmey PA (2009): MAP2-mediated in vitro interactions of brain microtubules and their modulation by cAMP. *Eur Biophys J*, 38(4): 381-393.
177. Li Y, Chopp M, Zhang ZG, Zhang RL, Garcia JH (1993): Neuronal survival is associated with 72-kDa heat shock protein expression after transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Neurol Sci* 120(2): 187-94.
178. Lin RC, Matesic DF (1994): Immunohistochemical demonstration of neuron-specific enolase and microtubule-associated protein 2 in reactive astrocytes after injury in the adult forebrain. *Neuroscience* 60(1): 11-16.
179. Lindemann G (2001): Die Interpretation „hirntot“. In: Schlich T, Wiesemann C (Hrsg). *Hirntod. Zur Kulturgeschichte der Todesfeststellung*, 332. Suhrkamp Verlag Frankfurt am Main.
180. Lindenberg R (1972): Systemic oxygen deficiencies: The respirator brain. In: Minckler J (ed) *Pathology of the Nervous System*, vol 2: 1583-1617. McGraw-Hill, New York.
181. Lingwood BE, Healy GN, Sullivan SM, Pow DV, Colditz PB (2008): MAP2 provides reliable early assessment of neural injury in the newborn piglet model of birth asphyxia. *J Neurosci Methods* 171: 140-146.
182. Link J (1996): Stellungnahme für die öffentliche Anhörung durch den Ausschuß für Gesundheit des Deutschen Bundestages. Ausschussdrucksache 588/13.
183. Linnik MD, Zobrist RH, Hatfield MD (1993): Evidence supporting a role for programmed cell death in focal cerebral ischemia in rats. *Stroke* 24(12): 2002-2009.
184. Liudkovskaia IG, Popova LM (1978): Morphology and pathogenesis of "brain death" in stroke. *Arkh Patol.* 40(9): 48-54. (Artikel in Russisch)
185. Loeb C (1975): Pathology of Cerebral Death. In: Harner, Naquet R (Hrsg.), *Altered states of consciousness, Coma, Cerebral Death*, 106-110. Elsevier, Amsterdam.
186. Lüllmann-Rauch R (2003): *Histologie Verstehen - Lernen - Nachschlagen*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
187. Maccioni RB, Cambiazo V (1995): Role of microtubule-associated proteins in the control of microtubule assembly. *Physiol Rev*, 75(4): 835-64.

188. Machado C, Korein J (2008): Correspondence for Wijdicks and Pfeifer: Neuropathology of brain death in the modern transplant era. *Neurology* 70(15): 1234-1237.
189. Machado C, Valdès P, García O, Coutin P, Miranda J, Román J (1993): Short latency somatosensory evoked potentials in brain-dead patients using restricted low cut filter setting. *J Neurosurg Sci* 37(3): 133-140.
190. MacManus JP, Buchan AM, Hill IE, Rasquinha I, Preston E (1993): Global ischemia can cause DNA fragmentation indicative of apoptosis in rat brain. *Neurosci Lett* 164(1-2): 89-92.
191. Madea B, Brinkmann B (2003): *Handbuch gerichtliche Medizin*, S. 1441. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
192. Magnus T, Chan A, Linker RA, Toyka KV, Gold R (2002): Astrocytes are less efficient in the removal of apoptotic lymphocytes than microglia cells: implications for the role of glial cells in the inflamed central nervous system. *Journal of neuropathology and experimental neurology* 61(9): 760-766.
193. Malinak C, Silverstein FS (1996): Hypoxic-ischemic injury acutely disrupts microtubule-associated protein 2 immunostaining in neonatal rat brain. *Biol Neonate*, 69: 257-67.
194. Manzei A (1997): *Hirntod, Herztod, ganz tot. Von der Macht der Medizin und der Bedeutung der Sterblichkeit für das Leben. Eine soziologische Kritik der Hirntodkonzeption*. Mabuse Verlag, Frankfurt am Main.
195. Manzei A (2003): *Körper - Technik - Grenzen: Kritische Anthropologie am Beispiel der Transplantationsmedizin*, S. 166. LIT Verlag Münster, Hamburg, London.
196. Markram H, Segal M (1990): Long-lasting facilitation of excitatory postsynaptic potentials in the rat hippocampus by acetylcholine. *J Physiol (Lond)* 427: 381-393.
197. Marx P (1985): Der plötzliche zerebrale Tod. *Pathophysiologie und Klinik mit spezieller Berücksichtigung der Vorläufersyndrome*. *Fortschr Med* 103: 109-113.
198. Masshoff W (1968): Zum Problem des Todes. *Münch med Wschr* 110 (43): 2473-2482.
199. Matakas F, Cervos-Navarro J, Schneider H (1973): Experimental brain death. I. Morphology and fine structure of the brain. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 36(4): 497-508.
200. McCormick WF, Halimi NS (1970): The hypophysis in patients with coma dépassé ("respirator brain"). *Am J Clin Pathol* 54(3): 374-383.
201. Métraux A (2001): Der Todesreigen in der belebten Materie. Xavier Bichat über das vielfache Sterben des Organismus. In: Schlich T, Wiesemann C (Hrsg.): *Hirntod. Zur Kulturgeschichte der Todesfeststellung*. 167-186, Frankfurt am Main.
202. Meyer G (1998): *Der andere Tod. Die Kontroverse um den Hirntod*. Mabuse Verlag, Frankfurt am Main.
203. Micklem K, Cordell J, Rigney E, Simmons D, Pulford K, Stross P (1989): A macrophage-associated antigen defined by five mAB. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H (Hrsg.): *Leucocyte typing IV. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 4th International Workshop and Conference*, 21-25.02.1989, Wien: 843-846. Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo.
204. Miller FG, Truog RD (2009): The incoherence of determining death by neurological criteria: a commentary on „Controversies in the determination of death“, a white paper by the President's Council on Bioethics. *Kennedy Inst Ethics J* (2):185-93.
205. Miyake T, Okada M, Kitamura T (1992): Reactive proliferation of astrocytes studied by immunohistochemistry for proliferating cell nuclear antigen. *Brain Res* 590(1-2): 300-302.

206. Miyazawa T, Bonnekoh P, Hossmann KA (1993): Temperature effect on immunostaining of microtubule-associated protein 2 and synaptophysin after 30 minutes of forebrain ischemia in rat. *Acta Neuropathol* 85(5): 526-532.
207. Molinari GF (1989): The determination of neurological death. In: Vinken PJ, Toole JF (Hrsg.), *Handbook of clinical Neurology*, Vol.11 (55): Vascular Diseases, Part III, Chapter 13: 255-274. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
208. Mollaret P, Goulon M (1959): Le coma dépassé. *Rev Neurol* 101: 3-15.
209. Mollaret P, Goulon M (1962): Über die äußersten Möglichkeiten der Wiederbelebung. Die Grenzen zwischen Leben und Tod. *MMW* 104: 1539-1545.
210. Mollaret P, Bertrand I, Mollaret H (1959): Coma dépassé et nécroses nerveuses centrales massives. *Revue Neurologique* 101: 116-139.
211. Moseley JI, Molinari GF, Walker AE (1976): Respirator brain. Report of a survey and review of current concepts. *Arch Pathol Lab Med* 100(2): 61-4.
212. Moskopp D (2005): Zum Hirntodkonzept. In: Moskopp D, Wassmann HD: *Neurochirurgie, Handbuch für die Weiterbildung und interdisziplinäres Nachschlagewerk*: 794-807. Schattauer GmbH Stuttgart, New York.
213. Moskopp D (2007): Hirntod-Konzept. In: van Aken H, Reinhart K, Zimpfer M, Welte T (Hrsg.): *Intensivmedizin*, 2: 1468-1476, Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, New York.
214. Munari M, Zucchetta P, Carollo C, Gallo F, De Nardin M, Marzola MC, Ferretti S, Facco E (2005): Confirmatory tests in the diagnosis of brain death: comparison between SPECT and contrast angiography. *Crit Care Med* 33(9): 2068-2073.
215. Niizuma K, Endo H, Nito C, Myer DJ, Chan PH (2009): Potential role of PUMA in delayed death of hippocampal CA1 neurons after transient global cerebral ischemia. *Stroke* 40(2): 618-625.
216. Nitatori T, Sato N, Waguri S, Karasawa Y, Araki H, Shibani K, Kominami E, Uchiyama Y (1995): Delayed neuronal death in the CA1 pyramidal cell layer of the gerbil hippocampus following transient ischemia is apoptosis. *J Neurosci* 15(2): 1001-1011.
217. Noto T, Furuichi Y, Ishiye M, Matsuoka N, Aramori I (2007): Tacrolimus (FK506) limits accumulation of granulocytes and platelets and protects against brain damage after transient focal cerebral ischemia in rat. *Biol Pharm Bull* 30: 313-317.
218. Oduncu F (1998): Hirntod und Organtransplantation. Medizinische, juristische und ethische Fragen. Vandenhoeck & Ruprecht, Göttingen.
219. Oehmichen M (1980): Enzyme alterations in brain tissue during the early postmortal interval with reference to the histomorphology: review of the literature. *Z Rechtsmed* 85(2): 81-95.
220. Oehmichen M (1990): Neuropathologie der forensisch relevanten Formen des Erstickens. In: Brinkmann P, Püschel K (Hrsg): *Ersticken. Fortschritte in der Beweisführung*, 151-157. Springer Verlag, Berlin.
221. Oehmichen M (1994): Brain death: neuropathological findings and forensic implications. *Forens Sci Int* 69: 205-219.
222. Oehmichen M (2005): Der Hirntod als Grundlage für eine Organexplantation. *FOCUS MUL* 22, Heft 2, Zeitschrift für Wissenschaft, Forschung und Lehre an der Universität zu Lübeck, S.84-85. Das Rektorat der Universität zu Lübeck (Hrsg).
223. Oehmichen M, Gencic M (1980): Postmortal histomorphologic and histoenzymatic alterations in rat brain. *Pathol Res Pract* 169(1): 72-83.

-
224. Oehmichen M, Meissner C (2006): Cerebral hypoxia and ischemia: the forensic point of view: a review. *J Forensic Sci* 51: 880-887.
225. Oehmichen M, Ochs U, Meissner C (2000): Histochemical characterization of cytotoxic brain edema. Potassium concentrations after cerebral ischemia and during the postmortem interval. *Exp Toxicol Pathol* 52(4): 348-352.
226. Oehmichen M, Auer RN, König HG (2009a): Forensic neuropathology and associated neurology. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
227. Oehmichen M, Gronki T, Meissner C, Anlauf M, Schwark T (2009b): Mast cell reactivity at the margin of human skin wounds: An early cell marker of wound survival? *Forensic Sci Int* 191: 1-5.
228. Oehmichen M, Woetzel F, Meissner C (2009c): Hypoxic-ischemic changes in SIDS brains as demonstrated by a reduction in MAP2-reactive neurons. *Acta Neuropathol* 117(3): 267-274.
229. Okamoto M, Matsumoto M, Ohtsuki T, Taguchi A, Mikoshiba K, Yanagihara T, Kamada T (1993): Internucleosomal DNA cleavage involved in ischemia-induced neuronal death. *Biochem Biophys Res Commun* 196(3): 1356-1362.
230. Ota A, Ikeda T, Ikenoue T, Toshimori K (1997): Sequence of neuronal responses assessed by immunohistochemistry in the newborn rat brain after hypoxia-ischemia. *Am J Obstet Gynecol*, 177: 519-526.
231. Ouaknine G, Kosary IZ, Braham J, Czerniak P, Nathan H (1973): Laboratory criteria of brain death. *J Neurosurg* 39(4): 429-33.
232. Pallis C (1982): ABC of brain stem death. From brain death to brain stem death. *Br Med J (Clin Res Ed)* 285(6353): 1487-90.
233. Pallis C, Harley DH (1996): ABC of brain stem death. 2nd edition. British Medical Journal Publishing Group, London.
234. Pannese E (1994): Neurocytology: fine structure of neurons, nerve processes, and neuroglial cells, 169-181. Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
235. Papasozomenos SC, Binder LI (1986): Microtubule-associated protein 2 (MAP2) is present in astrocytes of the optic nerve but absent from astrocytes of the optic tract. *J Neurosci* 6(6): 1748-1756.
236. Papst Johannes Paul II. (2000): Ansprache beim Internationalen Kongreß für Organverpflanzung im „Palazzo dei Congressi“ in Rom am 29. August 2000. Deutsche Übersetzung gemäß L'Osservatore Romano, Wochenausgabe in deutscher Sprache, 30. Jg., Nr. 37, 15.09.2000, S. 7ff.
237. Pardo B, Honegger P (1999): Aggregating brain cell cultures as a model to study ischemia-induced neurodegeneration. *Toxicology in vitro* 13(4-5): 543-547.
238. Paul S, Nairn AC, Wang P, Lombroso PJ (2003): NMDA-mediated activation of the tyrosine phosphatase STEP regulates the duration of ERK signaling. *Nat Neurosci* 6: 34-42.
239. Pearson J, Korein J, Braunstein P (1978): Morphology of defectively perfused brains in patients with persistent extracranial circulation. *Ann NY Acad Sci* 315: 265-271.
240. Pearson J, Korein J, Harris JH, Wichter M, Braunstein P (1977): Brain death II. Neuropathological correlation with the radioisotopic bolus technique for evaluation of critical deficit of cerebral blood flow. *Ann Neurol* 2(3): 206-10.
241. Pendl G (1986): Der Hirntod. Eine Einführung in seine Diagnostik und Problematik. Springer Verlag, Wien, New York.

-
242. Pendl G, Ganglberger JA, Steinbereithner K, Tschakaloff C (1972): Zerebraler Zirkulationsstillstand in Korrelation mit EEG- und PO2-AVD-Untersuchungen. *Acta Radiol (Diagn)* 13: 329-333.
243. Penin H, Käufer C (1969): *Der Hirntod. Todeszeitbestimmung bei irreversiblen Funktionsverlust des Gehirns.* Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
244. Persson L, Hardemark HG, Bolander HG et al. (1989): Neurologic and neuropathologic outcome after middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke* 20: 641-645.
245. Petersen IF (2002): Grenzkonflikte um Person und Leben. Kulturelle Wissensstrukturen in den Parlamentsdebatten zum Embryonenschutzgesetz und Transplantationsgesetz. Dissertation zur Erlangung des sozialwissenschaftlichen Doktorgrades der Sozialwissenschaftlichen Fakultät, Göttingen.
246. Plesnila N (2004): Role of mitochondrial proteins for neuronal cell death after focal cerebral ischemia. *Acta Neurochir Suppl* 89: 15-19.
247. Plesnila N, Haberstock J, Peters J et al. (1999): Effect of lactacidosis on cell volume and intracellular pH of astrocytes. *J Neurotrauma* 16: 831-841.
248. Popp A, Jaenisch N, Witte OW, Frahm C (2009): Identification of ischemic regions in a rat model of stroke. *PLoS ONE* 4(3): e4764.
249. Powner DJ, Hernandez M, Rives TE (2004): Variability among hospital policies for determining brain death in adults. *Crit Care Med* 32(6):1284-1288.
250. Przyborski SA, Cambray-Deakin MA (1995): Developmental regulation of MAP2 variants during neuronal differentiation in vitro. *Brain Res Dev Brain Res* 89: 187-201.
251. Pulford KAF, Rigney EM, Micklem KJ, Jones M, Stross WP, Gatter KC, Mason DY (1989): KP1: A new monoclonal antibody that detects a monocyte / macrophage associated antigen in routinely processed tissue sections. *J Clin Pathol* 42: 414-21.
252. Qi JP, Wu AP, Wang DS, Wang LF, Li SX, Xu FL (2004): Correlation between neuronal injury and Caspase-3 after focal ischemia in human hippocampus. *Chin Med J (Engl)* 181: 245-249.
253. Quinlan EM, Halpain S (1996): Emergence of Activity-Dependent, Bidirectional Control of Microtubule-associated Protein MAP2 Phosphorylation during Postnatal Development. *J Neurosci* 16(23): 7627-7637.
254. Qureshi AI, Kirmani JF, Xavier AR, Siddiqui AM (2004): Computed tomographic angiography for diagnosis of brain death. *Neurology* 62(4): 652-653.
255. Raghupathi R (2004): Cell death mechanisms following traumatic brain injury. *Brain Pathol* 14(2): 215-222.
256. Raley-Susman KM, Murata J (1995): Time course of protein changes following in vitro ischemia in the rat hippocampal slice. *Brain Res* 694: 94-102.
257. Reimers CD (2004): Hirntoddiagnostik und Organtransplantation. In: Prange W, Bitsch A (Hrsg.): *Neurologische Intensivmedizin. Praxisleitfaden für neurologische Intensivstationen und Stroke Units*, 320-325. Thieme Verlag, Stuttgart.
258. Reisner H (1973): Diskussionsbeitrag. In: Krösl W, Scherzer E (Hrsg.): *Die Bestimmung des Todeszeitpunktes*, 339-340. Wilh. Maudrich Verlag, Wien.
259. Riggs HE, Rupp C (1963): Variation in form of circle of Willis. The relation of the variations to collateral circulation: anatomic analysis. *Arch Neurol* 8: 8-14.
260. Robert F, Mummenthaler M (1977): Kriterien des Hirntodes. Die spinalen Reflexe bei 45 eigenen Beobachtungen. *SMW* 107: 335-341.

-
261. Roger B, Al Bassam J, Dehmelt L, Milligan RA, Halpain S (2004): MAP2c, but not tau, binds and bundles F-actin via its microtubule binding domain. *Curr Biol* 14: 363-371.
262. Roggendorf W (2002): Kreislaufstörungen des ZNS. In: Pfeiffer J, Schröder JM, Paulus W (Hrsg): *Neuropathologie. Morphologische Diagnostik der Krankheiten des Nervensystems und der Skelettmuskulatur*, 113-166. Dritte Auflage, Springer Verlag, Berlin.
263. Ropper AH (1984): Unusual spontaneous movements in brain-dead patients. *Neurology* 34: 1089-1092.
264. Royal Colleges and Faculties of the United Kingdom (1976): Diagnosis of brain death. Statement issued by the honorary secretary of the Conference of Medical Royal Colleges and their Faculties in the United Kingdom on 11 October 1976. *Br Med J* 2(6045): 1187-1188.
265. Sanchez C, Diaz-Nido J, Avila J (2000): Phosphorylation of microtubule-associated protein 2 (MAP2) and its relevance for the regulation of the neuronal cytoskeleton function. *Prog Neurobiol* 61:133-68.
266. Saposnik G, Muñoz DG (2008): Dissecting brain death: time for a new look. *Neurology* 70(15): 1230-1231.
267. Sayer H, Wiethölter H, Oehmichen M, Zentner J (1981): Diagnostic significance of nerve cells in human CSF with particular reference to CSF cytology in the brain death syndrome. *J Neurol* 225(2): 109-117.
268. Schewe G, Adebahr G (1970): Sekundärschäden am Gehirn bei Schädeltrauma. *J Legal Med* 67: 129-146.
269. Schiebeler TH, Schmidt W (2003): *Anatomie. Zytologie, Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen*. 8.Aufl. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
270. Schlake HP, Roosen K (1995): *Der Hirntod als der Tod des Menschen*. Deutsche Stiftung Organtransplantation, Neu-Isenburg.
271. Schlake HP, Roosen K (1998): Der Hirntod - Tod des Menschen. In: Höglinger G, Kleinert S: *Hirntod und Organtransplantation*, 25-56. Walter de Gruyter GmbH & Co, Berlin, New York.
272. Schlich T (1999): Ethik und Geschichte: Die Hirntoddebatte als Streit um die Vergangenheit. *Ethik Med* 11, 79 - 88.
273. Schlich T (2001): Tod, Geschichte, Kultur. In: Schlich T, Wiesemann C (Hrsg.): *Hirntod. Zur Kulturgeschichte der Todesfeststellung*, 9-44. Suhrkamp Verlag, Frankfurt am Main.
274. Schmidt RF, Lang F (2007): *Physiologie des Menschen*, S. 838. 30. Aufl. Springer Verlag, Heidelberg.
275. Schmidt-Kastner R, Zhao W, Truettner J, Belayev L, Busto R, Ginsberg MD (1998): Pixel-based image analysis of HSP70, GADD45 and MAP2 mRNA expression after focal cerebral ischemia: hemodynamic and histological correlates. *Brain Res Mol Brain Res* 63: 79-97.
276. Schneider G, Matakas F (1971): Pathological changes of the spinal cord after brain death. *Acta neuropath (Berlin)* 18: 234-247.
277. Schneider G, Matakas F (1973): Zur Morphologie des Hirntodes. In: Krösl W, Scherzer E (Hrsg.), *Die Bestimmung des Todeszeitpunktes*, 213-221. Wilh. Maudrich Verlag, Wien.
278. Schneider H, Masshoff W, Neuhaus GA (1967) Zerebraler Tod und Reanimation (ein Beitrag zur Pathogenese). *Wiederbelebung und Organersatz Intensivmedizin* 4: 88-107.
279. Schneider H, Masshoff W, Neuhaus GA (1969): Klinische und morphologische Aspekte des Hirntodes. *Klin Wschr* 47(16): 844-859.
280. Schneider D, Janzen RWC, Angstwurm H (1999): Therapieende, Hirntod. In: Schwab S, Krieger D, Müllges W, Hamann G, Hacke W (Hrsg.): *Neurologische Intensivmedizin*, 1050-57. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

-
281. Schockenhoff 1995, Stenographisches Protokoll der 17. Sitzung des Gesundheitsausschusses des Deutschen Bundestages (13/17.SdGA:381) vom 28.06.1995, öffentliche Anhörung. In: Petersen IF (2002): Grenzkonflikte um Person und Leben. Kulturelle Wissensstrukturen in den Parlamentsdebatten zum Embryonenschutzgesetz und Transplantationsgesetz, 215. Dissertation zur Erlangung des sozialwissenschaftlichen Doktorgrades der Sozialwissenschaftlichen Fakultät, Göttingen.
282. Schröder R (1983): Later changes in brain death. Signs of partial recirculation. *Acta Neuropathol* 62(1-2): 15-23.
283. Schultze WH (1923): Über Messungen und Untersuchungen des Liquor cerebrospinalis an der Leiche. In: Schmidt MB, Berblinger W (Hrsg.): *Centralblatt für allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie. Ergänzung zu Band 33*: 291-296. Fischer, Jena.
284. Schwerd W (1969): Todeszeit und Leichenschau heute und morgen. *Arztrecht* 11: 163-166.
285. Seehofer H (1996a): Plenarprotokoll der 99. Sitzung des Deutschen Bundestages (13/99.SdBT:8832) vom 19.04.1996.
286. Seehofer H (1996b): Plenarprotokoll der 99. Sitzung des Deutschen Bundestages (13/99.SdBT:8833) vom 19.04.1996, S. In: Petersen IF (2002): Grenzkonflikte um Person und Leben. Kulturelle Wissensstrukturen in den Parlamentsdebatten zum Embryonenschutzgesetz und Transplantationsgesetz, 223. Dissertation zur Erlangung des sozialwissenschaftlichen Doktorgrades der Sozialwissenschaftlichen Fakultät, Göttingen.
287. Seri B, Garcia-Verdugo JM, Mc Ewen BS, Alvarez-Buylla A (2001): Astrocytes give rise to new neurons in the adult mammalian brain. *J. Neurosci* 21: 7153-7160.
288. Shaulian E, Karin M (2002): AP-1 as a regulator of cell life and death. *Nat. Cell Biol* 4: E131-136.
289. Shi SR, Key ME, Kalra KL (1991): Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem* 39: 741-748.
290. Silverman D, Saunders MG, Schwab RS, Masland RL (1963): Cerebral death and the electroencephalogram. Report of the Ad Hoc Committee of the American Electroencephalographic Society on E.E.G. Criteria for Determination of Cerebral Death. *J.A.M.A.* 209: 1505-1510.
291. Siman R, Noszek JC (1988): Excitatory amino acids activate calpain I and induce structural protein breakdown in vivo. *Neuron* 1(4): 279-287.
292. Smith ML (2000): Injury-determining factors and cellular mechanisms for ischemic damage in brain. In: Oehmichen M (Hrsg.): *Brain hypoxia and ischemia. Research in legal medicine*, Vol. 24: 59-64. Schmidt-Römhild, Lübeck.
293. Smith AJK, Penry JK (1972): *Brain death: A Bibliography with Key Word and Author Indices*. Washington D.C., DHEW Publication (NIH), Government Printing Office: 73-347.
294. Smith ML, Auer RN, Siesjö BK (1984): The density and distribution of ischemic brain injury in the rat after 2-5 minutes of forebrain ischemia. *Acta Neuropathol (Berl)* 64: 319-332.
295. Spann W (1973): Die Bestimmung des Todeszeitpunktes aus gerichtsärztlicher Sicht. In: Krösl W, Scherzer E (Hrsg.): *Die Bestimmung des Todeszeitpunktes*, 263-266. Wilhelm Maudrich Verlag, Wien.
296. Spann W, Dustmann HO (1965): Das menschliche Hirngewicht und seine Abhängigkeit von Lebensalter, Körperlänge, Todesursache und Beruf. *Dtsch Zschr gerichtl Med* 56: 299-317.
297. Spittler JF (1995): Der Hirntod - Tod des Menschen. Grundlagen und medizinische Gesichtspunkte. *Ethik Med* 7: 128-145.
298. Stehbens WE (1963): Aneurysms and anatomical variation of cerebral arteries. *Arch Pathol* 75: 45-64.

299. Stochdorph O (1986): Gehirn, Rückenmark und ihre Häute. In: Eder M, Gedigk P (Hrsg.): Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und Patologischen Anatomie, S. 495-496. 32. Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
300. Strassner U, Fischer G (1995): Quantitative measurement of neuronal degeneration in organotypic hippocampal cultures after combined oxygen/glucose deprivation. *J Neurosci Methods* 57(2): 177-186.
301. Stratmann H (1978): Zur Todeszeitbestimmung beim Hirntod. Neuere klinische und elektroenzephalographische Verlaufsbeobachtungen bei einem neurologischen Krankengut. Inauguraldissertation zur Erlangung des Doktorgrades des Bereichs Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität Giessen.
302. Sunderman FW, Boerner F (1949): Normal values in clinical medicine. W.B. Saunders Company, Philadelphia; In: Saukko P, Knight B (Hrsg., 2004): Knight's Forensic Pathology, S. 608. Dritte Aufl., Arnold, Oxford University Press, Oxford.
303. Teasdale G, Jennett B (1976): Assessment of coma after head injury. *Acta Neurochir (Wien)* 34: 45-55.
304. Tomimoto H, Yanagihara T (1992): Immunoelectron microscopic study of tubulin and microtubule-associated proteins after transient cerebral ischemia in gerbils. *Acta Neuropathol* 84(4): 394-399.
305. Tomimoto H, Yanagihara T (2000): Vulnerability of dendrites and nerve cell bodies. In: Oehmichen M (Hrsg.): Brain hypoxia and ischemia, 65-84. Schmidt-Römhild, Lübeck.
306. Tomioka C, Nishioka K, Kogure K (1992): Absence of early destructive changes of cytoskeletal proteins after transient ischemia in the rat. *Brain Research* 586 (2): 352-357.
307. Towbin A (1973): The respirator brain death syndrome. *Hum Path* 4: 583-594.
308. Transplantationsgesetz (TPG, 1997): Gesetz über die Spende, Entnahme und Übertragung von Organen. In: Bundesgesetzblatt (BGBl) Jahrgang 1997, Teil I Nr. 74 vom 05.11.1997; 2631-2639.
309. Tucker RP (1990): The roles of microtubule-associated-proteins in brain morphogenesis: a review. *Brain Res Brain Res Rev* 15: 101-20.
310. Tucker RP, Garner CC, Matus A (1989): In situ localisation of microtubule-associated protein mRNA in the developing and adult rat brain. *Neuron* 2: 1245-1256.
311. Ujihira N, Hashizume Y, Takahashi A (1993): A neuropathological study on respirator brain. *Rinsho shinkeigaku = Clinical neurology* 33(2): 141-149.
312. Unterharnscheidt F (1993): Pathologie des Nervensystems VI.B, Traumatologie von Hirn und Rückenmark, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
313. Vanicky I, Balchen T, Diemer NH (1995): Alterations in MAP2 immunostainability after prolonged complete brain ischaemia in the rat. *Neuroreport* 7(1): 161-164.
314. Vaughn JE, Pease DC (1970): Electron microscopic studies of wallerian degeneration in rat optic nerves. II. Astrocytes, oligodendrocytes and adventitial cells. *J Comp Neurol* 140(2): 207-226.
315. Wagner, W (1995): Gemeinsamkeiten zwischen Hirntodkonzept und traditionellen Todeszeichenkonzepten. Überlegungen zu den anthropologischen Grundlagen der Feststellung des menschlichen Todes, *Ethik Med* 7: 202.
316. Walker AE (1978): Pathology of brain death. *Ann NY Acad Sci* 315: 272-280.
317. Walker A, Diamond E, Moseley J (1975): The neuropathological findings in irreversible coma. A critique of the "respirator." *J Neuropathol Exp Neurol* 34: 295-323.

-
318. Wang W, Redecker C, Yu ZY, Xie MJ, Tian DS, Zhang BTB, Witte OW (2007): Rat focal cerebral ischemia induced astrocyte proliferation and delayed neuronal death are attenuated by cyclin-dependent kinase inhibition. *J Clin Neurosci* 15: 278-285.
319. Wang CC, Fang KM, Yang CS, Tzeng SF (2009): Reactive oxygen species-induced cell death of rat primary astrocytes through mitochondria-mediated mechanism. *J Cell Biochem* 107(5): 933-943.
320. Weltärztebund (2008): Handbuch der Deklarationen, Erklärungen und Entschliessungen, deutsche Fassung, S. 296. Deklaration über die Feststellung des Todes und die Entnahme von Organen, Sydney 1968, revidierte Fassungen Venedig 1983, Pilanesberg 2006.
321. Wertheimer P, Juvet M, Descotes J (1959): A propos du diagnostic de la mort du système nerveux dans le comas avec arrêt respiratoire traités par la respiration artificielle. *Presse Med* 67: 87-88.
322. Weber F, Bitsch A, Prange H (2008): Koma, metabolische Störungen und Hirntod. In: Burchardi H, Larsen R, Kuhlen R, Jauch KW, Schölmerich J: *Die Intensivmedizin*, 635-644. Zehnte Aufl., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
323. Wiesemann C (2001): Notwendigkeit und Kontingenz. Zur Geschichte der ersten Hirntod-Definition der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie von 1968. In: Schlich T, Wiesemann C (Hrsg.): *Hirntod. Zur Kulturgeschichte der Todesfeststellung*, 209-238. Suhrkamp Verlag, Frankfurt am Main.
324. Wijdicks E (2002): Brain death worldwide: Accepted fact but no global consensus in diagnostic criteria, *Neurology* 58: 20-25.
325. Wijdicks EFM, Pfeifer EA (2008): Neuropathology of brain death in the modern transplant era. *Neurology* 70(15): 1234-7.
326. Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer (1982): Entscheidungshilfen zur Feststellung des Hirntodes. *Dtsch Ärztebl* 79: A45-55.
327. Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer (1986): Kriterien des Hirntodes. Erste Fortschreibung. *Dtsch Ärztebl* 83: A2940-2946.
328. Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer (1991): Kriterien des Hirntodes. Zweite Fortschreibung am 29. Juni 1991. *Dtsch Ärztebl* 49: A4396-4407.
329. Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer (1997): Kriterien des Hirntodes. Entscheidungshilfen zur Feststellung des Hirntodes. Dritte Fortschreibung 1997. *Dtsch Ärztebl* 94, Heft 19: A1296-1303.
330. Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer (1998): Richtlinien zur Feststellung des Hirntodes. Dritte Fortschreibung 1997 mit Ergänzungen gemäß Transplantationsgesetz (TPG). *Dtsch Ärztebl* 95, Heft 30: A1861-1868.
331. Wötzel F (2009): Hypoxisch-ischämische Hirnschädigung bei Opfern eines plötzlichen Kindstodes. Inauguraldissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.
332. Xia ZG, Dicken M, Raingeaud J, Davis RJ, Greenberg ME (1995): Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis. *Science* 270: 1326-1331.
333. Xia XY, Ikeda T, Ota A, Xia YX, Sameshima H, Ikenoue T, Toshimori K (1999): Heat shock protein 72 expression and microtubule-associated protein 2 disappearance after hypoxia-ischemia in the developing rat brain. *Am J Obstet Gynecol* 180(5): 1254-1262.
334. Yamamoto K, Morimoto K, Yanagihara T (1986): Cerebral ischemia in the gerbil: transmission electron microscopic and immunoelectron microscopic investigation. *Brain Res* 384: 1-10.
335. Yanagihara T, Brengman JM, Mushynski WE (1990): Differential vulnerability of microtubule components in cerebral ischemia. *Acta Neuropathol* 80: 499-505.

-
336. Yang E, Korsmeyer SJ (1996): Molecular thanatopsis: a discourse on the BCL2 family and cell death. *Blood*. 88(2): 386-401.
337. Yang DD, Kuan CY, Whitmarsh AJ, Rincon M, Zheng TS, Davis RJ, Rakic P, Flavell RA (1997): Absence of excitotoxicity-induced apoptosis in the hippocampus of mice lacking the Jnk3 gene. *Nature* 389: 865-870.
338. Zatloukal K, Denk H, Roth J (2004): Adaption, Zellschädigung, Zelltod. In: Böcker W, Denk H, Heitz PU (Hrsg): *Pathologie*, 54-71. Urban & Fischer, München.
339. Zhang QG, Wang R, Han D, Dong Y, Brann DW (2009): Role of Rac1 GTPase in JNK signaling and delayed neuronal cell death following global cerebral ischemia. *Brain Res* 1265: 138-147.
340. Zhao X, Ahram A, Berman RF, Muizelaar JP, Lyeth BG (2003): Early loss of astrocytes after experimental traumatic brain injury. *Glia* 44(2): 140-152.
341. Zieger A (1995): Stenographisches Protokoll der 17. Sitzung des Gesundheitsausschusses des Deutschen Bundestages (13/17.SdGA:388) vom 28.06.1995, öffentliche Anhörung. In: Petersen IF (2002): *Grenzkonflikte um Person und Leben. Kulturelle Wissensstrukturen in den Parlamentsdebatten zum Embryonenschutzgesetz und Transplantationsgesetz*, 235. Dissertation zur Erlangung des sozialwissenschaftlichen Doktorgrades der Sozialwissenschaftlichen Fakultät, Göttingen.
342. Zola-Morgan S, Squire LR, Amaral DG (1986): Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *J Neurosci* 6(10): 2950-2967.

7. Anhang

Anhang A: Fallmaterial der verschiedenen Kollektive und fallspezifische Auswertungen

- A.1: Gesamtkollektiv: Akteneinsicht
- A.2: Gesamtkollektiv: Zeitphasen
- A.3: Gesamtkollektiv: Makroskopie
- A.4: Teilkollektiv: Histologie reaktiver Veränderungen
- A.5: Teilkollektiv: Histologie degenerativer Veränderungen
- A.6: Kontrollkollektiv: Histologie degenerativer Veränderungen

Anhang B: Deskriptive Statistik

- B.1: Anzahl der Fälle (gesamt): Makroskopische Befunde und Altersklassen
- B.2: Anzahl der Fälle (gesamt): Makroskopische Befunde und Zeitphasen
- B.3: Anzahl der Fälle (gesamt): Mikroskopische Befunde und Zeitphasen
- B.4: MAP2-Expression im Kollektiv Hirntod
- B.5: MAP2-Expression im Kontroll-Kollektiv
- B.6: MAP2-Expression im Zeitintervall A-B
- B.7: MAP2-Expression im Zeitintervall B-C
- B.8: MAP2-Expression im Zeitintervall A-C

Anhang C: Darstellung der statistischen Signifikanz

Tabelle C.1: Darstellung der Exakten Signifikanz (2-seitig) bei Gegenüberstellung der makroskopischen Befunde klassifiziert nach Diagnosegruppen, Signifikanz bei $p \leq 0,05$

Tabelle C.2: Darstellung der Exakten Signifikanz (2-seitig) bei Gegenüberstellung der makroskopischen Befunde klassifiziert nach Altersklassen, Signifikanz bei $p \leq 0,05$

Tabelle C.3: Darstellung der Exakten Signifikanz (2-seitig) bei Gegenüberstellung der makroskopischen Befunde klassifiziert nach dem Geschlecht, Signifikanz bei $p \leq 0,05$

Tabelle C.4: Darstellung der Exakten Signifikanz (2-seitig) bei Gegenüberstellung der mikroskopischen Befunde klassifiziert nach dem Geschlecht, Signifikanz bei $p \leq 0,05$

Tabelle C.5: Darstellung der Signifikanz (2-seitig) bei Gegenüberstellung der MAP2-Expression verschiedener CA-Regionen innerhalb des Hirntod-Kollektivs, $n=27$, Signifikanz bei $p \leq 0,008$

Tabelle C.6: Darstellung der Signifikanz (2-seitig) bei Vergleich der MAP2-Expression verschiedener CA-Regionen in den Kollektiven Hirntod ($n=27$) und Akutversterben (Kontrolle, $n=17$), Signifikanz bei $p \leq 0,012$

Anhang D: Chemikalien- und Gerätenachweis

- D.1: Chemikaliennachweis und Ansätze der Reagenziengemische
- D.2: Nachweis der Geräte und Arbeitsutensilien

Anhang E: Danksagung

Anhang F: Lebenslauf

Anhang A

Fallmaterial der verschiedenen Kollektive und fallspezifische Auswertungen

A.1: Gesamtkollektiv: Akteneinsicht

Lfd. Nr.	Fall		Alter (Jahre)	Geschlecht	Diagnose (-gruppe)
1	GA 999/05	Ki S 169/05	25	m	SDH, Kontusionsblutungen (I)
2	GA 952/05	Ki S 145/05	58	m	SHT (I)
3	GA 872/05	Ki S 81/05	45	m	Massenblutung (I)
4	GA 846/05	Ki 127/05	18	m	Panenzephalitis, Verdacht auf Rabiesinfektion (II)
5	GA 826/05	Hd S 150/05	4	w	angeborener Hydrocephalus internus, Druckventil defekt (II)
6	GA 270/05	Ki S 29/05	54	w	nicht-traumat. SAB, Hirnbasis-Aneurysma (Ischämie) (II)
7	S 131/05		32	m	Polytrauma, Bronchopneumonie (I)
8	GA 122/05	Ki S 316/04	65	w	SDH (I)
9	S 77/05		23	m	Überdosis Insulin, Coma diabeticum (III)
10	S 29/05		11	w	SDH, SAB, Zustand nach Entlastungsoperation (I)
11	S 5/05		18	m	Herzinfarkt, Hypoxie (II)
12	GA 1847/04	Ki S 283/04	10	m	Epilepsie, zentrales Regulationsversagen (II)
13	GA 1784/04	Ki S 281/04	38	m	SHT (I)
14	GA 1752/04	Ki S 188/04	27	m	SDH, Kontusionsblutungen, Ödem (I)
15	GA 1432/04	Ki S 238/04	65	w	Intoxikation, Herzstillstand (III)
16	GA 1077/04	Hd S 128/04	67	m	SDB, intracerebrale Blutung (I)
17	GA 219/04	Gö L 5/04	45	m	SDH, Polytrauma, gliding contusion (I)
18	S 124/04		56	m	Brandopfer, CO-Hb 20%, Herzstillstand (II)
19	S 122/04		29	m	SHT, Kontusionsblutungen, Hirnödem (I)
20	S 68/04		27	m	SAB, Ruption d. A. carotis int. (I)
21	S 62/04		38	m	SAB, intraventrikuläre Blutung (I)
22	S 55/04		33	m	Polytrauma, SDH, gliding contusion (I)
23	GA 1114/03	Ki S 187/03	62	w	SDH li, SAB li (I)
24	GA 1111/03	Gö L 264/03	1	w	Stromeinwirkung (II)
25	GA 1082/03	Gö L 273/03	80	w	intraop. Ruption d. A. carotis int., SAB, general. Hypoxie (II)
26	GA 677/03	Ki S 64/03	29	m	Kontusion, SAB, SDH re (I)
27	GA 308/03	Ki S 199/03	72	m	SDH, SAB, akute Massenblutung (I)
28	GA 120/03	Ki S 298/02	38	m	SDH, EDH, intracerebrales Hämatom, Hirnödem (I)
29	S 108/03		73	m	SDH, akute Erweichung (I)
30	S 71/03		11	w	Tumor-Erkrankung, intraoperative Hypoxie 25 min. (II)
31	GA 1035/02	Gö L 335/02	73	w	Anästhesie-Zwischenfall, Hypoxie (II)
32	GA 480/02	Gö L 138/02	6	m	Verbrennungen, CO-Intoxikation (II)
33	GA 476/02	Ki S 86/02	15	m	Ischämie durch externe Einklemmung (II)
34	GA 241/02	Hd S 350/01	22	m	EDH, Kontusionsblutungen (I)
35	GA 209/02	Gö L 52/02	52	w	Kreislaufstillstand, Hypoxie (II)
36	S 181/02		56	w	Rinden- u. Markblutungen, SDB, SAB (I)
37	S 177/02		42	w	Krampfleiden, Pneumonie (II)
38	S 146/02		73	m	Herzinfarkt, Lungenembolie (II)
39	GA 75/02	Gö L 3/02	71	w	kardiales Aneurysma, Hypoxie (II)

Lfd. Nr.	Fall		Alter (Jahre)	Geschlecht	Diagnose (-gruppe)
40	S 35/02		31	m	Polytrauma, SDH, SAB (I)
41	GA 815/01	Hd S 195/01	0,083	w	Misshandlung, SHT (I)
42	GA 808/01	Ki S 160/01	41	m	Krampfanfall, SDH, Kontusionsblutung (I)
43	S 86/01		62	m	kortikale Blutungen frontobasal (I)
44	GA 614/00	Ki S 193/00	60	w	Hammerschläge, offenes SHT (I)
45	GA 535/00	Ki S 135/00	39	w	SDH, Kontusionsblutungen (I)
46	S 212/00		43	m	Kontusionsblut. fronto-, temporobasal (I)
47	GA 196/00	Gö 81/00	37	w	Aneurysma, SAB, generalisierte Hypoxie (II)
48	S 193/00		37	w	Einklemmung, SAB, Kontusionsblutung (I)
49	S 182/00		59	m	SDB, SAB (I)
50	S 135/00		45	w	Aneurysma, SAB (I)
51	GA 108/00	Gö L 70/00	64	w	primäres Trauma, Sepsis, Abszess (I)
52	GA 107/00	Hd S 249/99	0,16	m	Schütteltrauma, SDH (I)
53	S 84/00		21	m	Tod durch Ertrinken, erfolglose Reanimation (II)
54	S 78/00		41	w	SDB, EDB, Kontusionsblutungen (I)
55	S 26/00		0,25	w	Schütteltrauma, SDH, EDB (I)
56	GA 502/99	Hd S 351/98	18	m	Polytrauma, SDB, Kontusionsblutungen (I)
57	GA 444/99	Hd S 237/99	16	m	Alkoholintoxikation, Aspiration (II)
58	GA 413/99	Hd S 220/99	19	m	hirnorganische Anfälle (II)
59	GA 251/99	Hd S 269/98	59	w	Asystolie, erfolglose Reanimation (II)
60	GA 217/99	Hd S 18/99	47	m	Kontusionsblut., SDH links (I)
61	GA 216 /99	Hd S 59/99	19	m	Kontusionsblutungen, SHT (I)
62	S 185/99		45	m	Aneurysma-, Kontusionsblutungen, SAB (I)
63	S 176/99		64	m	Tod durch Verbluten, Polytrauma, SHT, Kontusion (I)
64	S 160/99		45	m	SDB, intrazerebrale Blutung (I)
65	S 137/99		22	m	SDH (I)
66	S 122/99		65	m	SDH (I)
67	S 113/99		32	m	SDH, Kontusionsblutungen (I)
68	S 111/99		55	m	SDH, Kontusionsblutungen (I)
69	S 49/99		26	m	Infarkt der Arteria cerebri media (II)
70	S 46/99		39	w	Polytrauma, SHT (I)
71	S 35/99		50	m	Polytrauma, SDH, Kontusionsblutungen (I)
72	S 31/99		20	m	schweres SHT (I)
73	GA 29/99	Hd S 285/98	25	m	Hirnblutung frontobasal, generalisierte Hypoxie (II)
74	GA 336/98		22	m	Heroin-Intoxikation, Kreislaufstillstand (III)
75	S 155/98		64	m	SDH, EDH, Kontusionsblutungen (Rinde) (I)
76	S 116/98		58	m	SHT (I)
77	S 92/98		39	w	Schussverletzung, minimale SDB (I)
78	S 85/98		17	m	SDH, EDH, SDB im HWS-Bereich (I)
79	S 81/98		12	w	Barbiturat-Intoxikation, Schock-Zustand (III)
80	GA 41/98	Hd S 436/97	3	m	Beschleunigungstrauma, Herzstillstand, SAB (II)
81	S 7/98		49	m	Massenblutung, Kontusion (I)
82	GA 395/97	Hd S 145/97	43	w	Massenblutung, Ventrikeltamponade (I)
83	GA 307/97	Hd S 146/97	71	m	SDH links, (I)
84	GA 201/97	Hd S 37/97	45	w	Pneumothorax, Hypoxie (II)
85	S 154/97		20	m	SDB, SAB, Brückenblutung (I)
86	GA 138/97	Hd S 52/97	34	m	SDH, Kontusionsblutungen (I)

Lfd. Nr.	Fall		Alter (Jahre)	Geschlecht	Diagnose (-gruppe)
87	GA 137/97	Hd S 28/97	37	w	SDH, Ödem, Hirnerweichung (I)
88	S 135/97		42	m	SDB (I)
89	S 123/97		36	m	Suizidversuch durch Erschießen, SHT,EDB, SDH (I)
90	GA 115/97	Hd S 1/97	36	m	primäres Trauma, sekundäre Meningitis (I)
91	S 96 /97		18	m	Polytrauma, Kontusionsblutungen (I)
92	S 55/97		54	m	SDH, Kontusionsblutungen (I)
93	S 46/97		62	w	Polytrauma, Schockveränderungen (I)
94	S 43/97		38	m	Verletzung durch Gaspistole, SHT (I)
95	S 36/97		60	m	Kontusionsblut., Ventrikelriss (I)
96	S 15/97		10	m	Sepsis, Multi-Organversagen, geringe SAB (II)
97	GA 454/96	Hd S 206/96	9	m	Kontusionsblutungen, Trauma (I)
98	GA 270/96	Hal S 89/96	42	m	postoperativer Kreislaufstillstand (II)
99	S 195/96		15	w	Kontusionsblutungen (I)
100	GA 582/95	B 360/95	33	m	SDH, Ventrikeltamponade (I)
101	GA 581/95	B 363/95	7	w	SAB (I)
102	S 201/95		80	m	SDH (I)
103	S 198/95		16	m	SHT, Kontusionsblutungen (I)
104	GA 197/95	Hd S 81/95	49	m	SDH, (zusätzlich hypoxische Schädigung) (I)
105	GA 196/95		48	w	SHT, Kontusionsblutungen (I)
106	S 186/95		39	m	SDB, SAB, Kontusionsblutungen (I)
107	S 169/95		72	m	SDH, Polytrauma (I)
108	S 167/95		21	w	SHT, Massenblutung (I)
109	S 153/95		49	m	Brandopfer, CO-Intoxikation, Hypoxie (II)
110	S 147/95		27	m	Polytrauma (I)
111	S 115/95		52	w	SDH, Schädelfraktur (I)
112	S 95/95		27	m	Morphin-Intoxikation (III)
113	S 94/95		54	m	SDH links (I)
114	S 90/95		51	m	SDH (I)
115	GA 87/95	HB 292/95	34	m	Stichverletzung, Ruptur d. A. cerebri media (I)
116	S 61/95		56	m	SDH (I)
117	S 53/95		21	m	Kopfschuss, SHT (I)
118	S 26/95		51	w	plötzliches Koma, SDH (I)
119	GA 587/94	Hd S 347/94	41	m	Verschluss der Arteria carotis interna, Ischämie (II)
120	GA 577/94	B L 418/94	5	m	Rauchgas-Intoxikation, Ischämie, Hypoxie (II)
121	GA 576/94	B 306/94	52	m	Hirnmassenblutung, Ventrikeltamponade (I)
122	GA 574/94	B 120/94	72	m	Hirnfarkt, ischämische Nekrose (II)
123	S 161/94		14	m	malignes Hirnödem, Kontusion (I)
124	S 136/94		64	m	SDH, EDH, Kontusionsblutungen (I)
125	S 132/94		39	m	SDH, SAB, Kontusionsblutungen (I)
126	S 129/94		16	m	Tod durch Ertrinken (II)
127	S 128/94		30	m	Ischämie, hämorrhagischer Infarkt (II)
128	S 120/94		25	m	Tod durch Ertrinken, hämorrhagischer Infarkt (II)
129	S 109/94		54	m	offenes SHT, Kontusionsblutungen (I)
130	GA 108/94		52	m	Polytrauma, SHT, SAB (I)
131	S 91/94		28	m	Ersticken, erfolglose Reanimation (II)
132	S 33/94		53	m	SDH, EDH, Kontusion, Ventrikelriss (I)
133	S 30/94		52	w	Kontusions-, Ventrikelriss, V.a. Multiple Sklerose (I)

Lfd. Nr.	Fall		Alter (Jahre)	Geschlecht	Diagnose (-gruppe)
134	S 28/94		52	m	SDB, SAB (I)
135	S 21/94		31	m	primäre Unterkühlung, Schock (II)
136	S 16/94		36	m	Kontusionsblutungen (I)
137	S 4/94		64	m	SHT, SAB, EDB, Kontusion (I)
138	GA 644/93	HR 188 S94	55	m	Rindenblutung, Schädeldach-, basisfraktur (I)
139	GA 643/93	HB 184 S93	77	m	Massenblutung, SDB links (I)
140	GA 391/93	Hd 251/93	13	w	Trauma (I)
141	S 200/93		57	w	SDB, SAB, Kontusionsblut. (I)
142	S 197/93		15	m	EDH, SHT, Kontusionsblutungen (I)
143	S 180/93		31	m	CO-Intoxikation (II)
144	GA 167/93	Hd S 501/92	31	m	Strangulation (II)
145	S 154/93		28	m	Kopfschuss temporal (Gas), Trepanation rechts (I)
146	S 67/93		47	w	Blutungen, hepatische Enzephalopathie (III)
147	GA 809/92	HB 219 S132	45	w	SDH, Ventrikelblutung (I)
148	S 221/92		52	m	Heroin-Intoxikation, Kreislaufstillstand (III)
149	S 106/92		24	w	Chloroform-Intoxikation, Hypoxie (III)

Tabelle A.1: Tabellarische Darstellung der Fälle des Gesamtkollektivs (Hirntod-Fälle), Aufzeichnung von Alter, Geschlecht und Diagnose (SDB, SDH= Subduralblutung, -hämatom; SAB= Subarachnoidalblutung, EDB, EDH= Epiduralblutung, -hämatom; SHT= Schädelhirntrauma, HWS= Halswirbelsäule; V.a.= Verdacht auf)

A.2: Gesamtkollektiv: Zeitphasen

Lfd. Nr.	Fall		Zeitintervall A-B (Stunden)	Zeitgruppe in A-B	Zeitintervall B-C (Stunden)	Zeitgruppe in B-C	Zeitintervall A-C (Stunden)	Zeitgruppe in A-C
1	GA 999/05	Ki S 169/05					180	4
2	GA 952/05	Ki S 145/05					300	4
3	GA 872/05	Ki S 81/05					228	4
4	GA 846/05	Ki S 127/05	48	3				
5	GA 826/05	Hd S 150/05	72	3	24	3	96	3
6	GA 270/05	Ki S 29/05	40	2				
7	S 131/05						156	4
8	GA 122/05	Ki S 316/04	24	2	24	3	48	2
9	S 77/05		92	4	31	3	123	3
10	S 29/05		20	1	2,5	1	22,5	1
11	S 5/05		108	4	47	4	155	4
12	GA 1847/04	Ki S 283/04					486	4
13	GA 1784/04	Ki S 281/04	72	3	24	3	96	3
14	GA 1752/04	Ki S 188/04					252	4
15	GA 1432/04	Ki S 238/04					48	2
16	GA 1077/04	Hd S 128/04					48	2
17	GA 219/04	Gö L 5/04					228	4
18	S 124/04						60	2
19	S 122/04						30	1

Lfd. Nr.	Fall		Zeitintervall A-B (Stunden)	Zeitgruppe in A-B	Zeitintervall B-C (Stunden)	Zeitgruppe in B-C	Zeitintervall A-C (Stunden)	Zeitgruppe in A-C
20	S 68/04		36	2				
21	S 62/04		48	3	15	2	62	2
22	S 55/04						40	1
23	GA 1114/03	Ki S 187/03					72	2
24	GA 1111/03	Gö L 264/03					96	3
25	GA 1082/03	Gö L 273/03	12	1	25	3	37	1
26	GA 677/03	Ki S 64/03	5	1	13	2	18	1
27	GA 308/03	Ki S 199/03					155	4
28	GA 120/03	Ki S 298/02					1332	4
29	S 108/03		51	3	14	2	65	2
30	S 71/03						108	3
31	GA 1035/02	Gö L 335/02	24	2	2	1	26	1
32	GA 480/02	Gö L 138/02	996	4				
33	GA 476/02	Ki S 86/02					84	3
34	GA 241/02	Hd S 350/01	180	4	132	4	324	4
35	GA 209/02	Gö L 52/02					192	4
36	S 181/02		60	3	14	2	74	3
37	S 177/02		18	1	24	3	42	1
38	S 146/02						48	2
39	GA 75/02	Gö L 3/02					48	2
40	S 35/02						156	4
41	GA 815/01	Hd S 195/01	2	1	76	4	78	3
42	GA 808/01	Ki S 160/01					132	3
43	S 86/01		84	3	24	3	108	3
44	GA 614/00	Ki S 193/00					372	4
45	GA 535/00	Ki S 135/00					300	4
46	S 212/00		38	2	21	2	59	2
47	GA 196/00	Gö 81/00	24	2	17	2	41	1
48	S 193/00		72	3	48	4	120	3
49	S 182/00		58	3	3,5	1	61,5	2
50	S 135/00		27	2	21	2	48	2
51	GA 108/00	Gö L 70/00					2508	4
52	GA 107/00	Hd S 249/99	50	3	25	3	75	3
53	S 84/00		96	4	108	4	204	4
54	S 78/00		216	4	12	1	228	4
55	S 26/00		24	2	26	3	50	2
56	GA 502/99	Hd S 351/98					36	1
57	GA 444/99	Hd S 237/99	72	3	60	4	132	3
58	GA 413/99	Hd S 220/99	204	4	192	4	396	4
59	GA 251/99	Hd S 269/98	72	3	6	1	78	3
60	GA 217/99	Hd S 18/99					89	3
61	GA 216 /99	Hd S 59/99					264	4
62	S 185/99		81	3	23	2	104	3
63	S 176/99		0,16	1				
64	S 160/99		108	4	24	3	132	3

Lfd. Nr.	Fall		Zeitintervall A-B (Stunden)	Zeitgruppe in A-B	Zeitintervall B-C (Stunden)	Zeitgruppe in B-C	Zeitintervall A-C (Stunden)	Zeitgruppe in A-C
65	S 137/99		84	3	24	3	168	4
66	S 122/99		32	2	37	3	69	2
67	S 113/99		29,5	2	13,5	2	43	1
68	S 111/99		41,5	2	19,15	2	62	2
69	S 49/99		50	3	22	2	72	2
70	S 46/99		3	1				
71	S 35/99		20	1				
72	S 31/99		132	4	17	2	156	4
73	GA 29/99	Hd S 285/98	20,5	1	28	3	48,5	2
74	GA 336/98						156	4
75	S 155/98		24	2	36	3	60	2
76	S 116/98						72	2
77	S 92/98		72	3	24	3	96	3
78	S 85/98		92	4	19	2	101	3
79	S 81/98		14	1	61	4	75	3
80	GA 41/98	Hd S 436/97	24	2	40	4	64	2
81	S 7/98		108	4	16	2	124	3
82	GA 395/97	Hd S 145/97					24	1
83	GA 307/97	Hd S 146/97					25	1
84	GA 201/97	Hd S 37/97	24	2	48	4	72	2
85	S 154/97		24	2	20	2	44	1
86	GA 138/97	Hd S 52/97					300	4
87	GA 137/97	Hd S 28/97	60	3	12	1	72	2
88	S 135/97		24	2	21	2	45	1
89	S 123/97		38	2	12	1	50	2
90	GA 115/97	Hd S 1/97	420	4	72	4	21	1
91	S 96 /97		8	1	21	2	29	1
92	S 55/97		96	4	18	2	114	3
93	S 46/97		96	4	9	1	105	3
94	S 43/97		0,5	1	42,5	4	43	1
95	S 36/97		35	2	13	2	48	2
96	S 15/97		96	4	5	1	101	3
97	GA 454/96	Hd S 206/96					228	4
98	GA 270/96	Hal S 89/96	51	3	22	2	73	3
99	S 195/96		132	4	3,5	1	156	4
100	GA 582/95	B 360/95					12	1
101	GA 581/95	B 363/95	13,5	1				
102	S 201/95		90	4	4	1	94	3
103	S 198/95		13	1	34	3	47	1
104	GA 197/95	Hd S 81/95	36	2				
105	GA 196/95		23	2	23,5	2	46,5	1
106	S 186/95		24	2	24	3	48	2
107	S 169/95		84	3	5	1	89	3
108	S 167/95		418	4	2	1	420	4
109	S 153/95		84	3	24	3	108	3

Lfd. Nr.	Fall		Zeitintervall A-B (Stunden)	Zeitgruppe in A-B	Zeitintervall B-C (Stunden)	Zeitgruppe in B-C	Zeitintervall A-C (Stunden)	Zeitgruppe in A-C
110	S 147/95						12	1
111	S 115/95						56	2
112	S 95/95		40	2	32	3	72	2
113	S 94/95		84	3	48	4	132	3
114	S 90/95		7,5	1	43,5	4	51	2
115	GA 87/95	HB 292/95					26	1
116	S 61/95		48	3	48	4	96	3
117	S 53/95		18	1	24	3	42	1
118	S 26/95		2	1	22	2	24	1
119	GA 587/94	Hd S 347/94	192	4	24	3	216	4
120	GA 577/94	B L 418/94					30	1
121	GA 576/94	B 306/94	21	1	87	4	108	3
122	GA 574/94	B 120/94	228	4	48	4	276	4
123	S 161/94		4	1	5	1	9	1
124	S 136/94		5	1	43	4	48	2
125	S 132/94		18	1	4	1	24	1
126	S 129/94		96	4	55	4	151	4
127	S 128/94						84	3
128	S 120/94		96	4	84	4	180	4
129	S 109/94		51	3	2,4	1	50,5	2
130	GA 108/94		36	2	12	1	48	2
131	S 91/94						348	4
132	S 33/94		225	4	3	1	228	4
133	S 30/94		3	1	57	4	60	2
134	S 28/94						72	2
135	S 21/94		9	1	13	2	22	1
136	S 16/94						132	3
137	S 4/94		38	2	10	1	48	2
138	GA 644/93	HR 188 S94	19	1	53	4	72	2
139	GA 643/93	HB 184 S93					228	4
140	GA 391/93	Hd 251/93					18	1
141	S 200/93						36	1
142	S 197/93						48	2
143	S 180/93						24	1
144	GA 167/93	Hd S 501/92					492	4
145	S 154/93		84	3	24	3	108	3
146	S 67/93						78	3
147	GA 809/92	HB 219 S132					37	1
148	S 221/92						252	4
149	S 106/92		62	3	27	3	89	3

Tabelle A.2: Tabellarische Darstellung der Fälle des Gesamtkollektivs (Hirntod-Fälle), Aufzeichnung der Zeitintervalle A-B= Zeit von kausalem Ereignis (z.B. Trauma) bis erster Hirntod-Diagnose, B-C= Zeit von erster Hirntod-Diagnose bis zur Beendigung der Beatmung, A-C= Zeit von kausalem Ereignis bis zur Beendigung der Beatmung). Dargestellt ebenfalls die Einteilung dieser Zeitintervalle in verschiedene Zeitgruppen (1= kurz, 4= lang).

A.3: Gesamtkollektiv: Makroskopie

Lfd. Nr.	Hirngewicht (g)		Gehirn							Halsmark		
	nativ	fixiert	Abflachung der Gyri	Uncusschnürfurche	Kleinhirndruckkonus	Tonsillennekrose	Mittellinien- verlagerung	Brücke: Blutung, Nekrose	Hämorrhagischer Infarkt okzipital	Kleinhirn- Nekrose	Halsmark: Blutung, Nekrose	EDB, SDB, SAB
1	1680	1600	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja
2		1570	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
3	1925	1820	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein			
4	1590	1490	ja	ja	ja	nein	ja	nein	nein	ja	ja	ja
5		1000	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
6	1565	1440	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein	nein	ja	ja
7	1550	1590	ja	ja	ja	nein	ja	nein	nein	nein	nein	nein
8	1230	1110	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja	nein	nein	nein
9	1510	1470	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja	nein	nein
10	1420	1340	ja	ja	ja	nein	nein	nein	nein	nein	nein	ja
11	1380	1320	ja	ja	ja	nein	nein	nein	nein			
12		1510	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja		
13		1520	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein
14		1635	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
15		1150	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	ja	nein
16		1370	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja			
17		1500	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
18	1750	1780	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
19	1750	1720	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	ja	ja
20	1300	1250	ja	ja	ja	ja	ja	nein	nein	ja	ja	ja
21	1530	1440	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	ja	ja
22	1740	1680	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	ja	
23		1270	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein	nein	nein	nein
24		1250	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein			
25	1350	1420	ja	ja	ja	ja	ja	ja				
26		1530	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	nein	ja
27		1180	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein			
28	1500	1340	ja	ja	ja	nein	ja	nein	nein			
29	1280	1280	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein	nein	nein	ja
30	1480	1470	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein	ja	ja	nein
31		1420	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
32		1510	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
33		1130	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein			
34		1680	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja		
35		1380	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
36		1330	ja	ja	ja	ja	ja	ja		ja	ja	nein
37		1270	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	ja	nein
38	1320	1280	ja	ja	ja	nein	nein	ja	nein	nein	nein	nein
39		1430	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein			
40	1950	1870	ja	ja	ja	nein	ja	nein	nein			

Lfd. Nr.	Hirngewicht (g)		Gehirn							Halsmark		
	nativ	fixiert	Abflachung der Gyri	Uncussnür-furche	Kleinhirn-druckkonus	Tonsillen-nekrose	Mittellinien-verlagerung	Brücke: Blutung, Nekrose	Hämorrhag. Infarkt okzipital	Kleinhirn-Nekrose	Halsmark: Blutung, Nekrose	EDB, SDB, SAB
41	480	490	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein	ja	nein	nein
42		1280	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein			ja
43		1560	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein
44		1330	ja	ja	ja	ja	ja	nein	nein	ja	ja	nein
45		1360	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein
46	1480	1450	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein	nein	nein	nein
47		1410	ja	ja	ja	nein	nein	ja	nein			
48	1420	1360	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein	ja	ja	ja
49	1300	1270	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
50	1380	1370	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein			
51		1320	ja	ja	ja	ja	ja	nein	nein			
52		700	ja	ja	ja	ja	nein					
53	1650	1590	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	ja	
54	1550	1530	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
55	800	760	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja
56		1620	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein			
57		1400	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
58		1350	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
59		1270	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
60		1370	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein			
61		1240	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein			
62	1580	1600	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja	ja	ja
63	1320	1270	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	nein
64	1150	1050	ja	ja	ja	nein	nein	ja	nein	nein	nein	nein
65	1780	1690	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein
66	1540	1500	ja	ja	ja	ja	ja	ja				
67	1680	1620	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein	ja
68	1760	1760	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja
69	1240	1230	ja	ja	ja	ja	nein	nein				
70	1510	1900	ja	ja	ja	nein	nein	nein	nein			
71	1380	1330	ja	ja	ja	nein	nein	ja	nein	nein	nein	nein
72	1890	1750	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein			
73		1310	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
74	1400	1540	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
75	1940	1905	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
76	1560	1505	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
77	1330	1270	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	ja	nein
78	2290	2030	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja
79	1410	1380	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	nein	nein
80		1290	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja			
81	1480	1450	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein
82		1100	ja	ja	ja	ja	ja	nein	nein			
83	1175	1300	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja			

Lfd. Nr.	Hirngewicht (g)		Gehirn							Halsmark		
	nativ	fixiert	Abflachung der Gyri	Uncusschnürfurche	Kleinhirndruckkonus	Tonsillennekrose	Mittellinienverlagerung	Brücke: Blutung, Nekrose	Hämorrhag. Infarkt okzipital	Kleinhirnekrose	Halsmark: Blutung, Nekrose	EDB, SDB, SAB
84		1250	ja	ja	ja	ja	nein	nein	ja			
85	1730	1700	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	nein
86		1590	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein			
87		1260	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
88		1450	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein
89	1550	1490	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	ja	nein
90		1510	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	ja	ja
91	1500	1450	ja	nein	ja	ja	nein	nein	nein	ja	ja	ja
92	1510	1440	ja	ja	ja	ja	ja	ja		ja	nein	nein
93	1290	1300	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein	ja	ja	ja
94	1490	1340	ja	ja	ja	ja	nein			nein	nein	nein
95	1380	1320	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	nein	nein	nein
96	1450	1810	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja	ja	ja
97		1650	ja	ja	ja	nein	nein	ja	ja			
98	1410	1400	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
99	1350	1320	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein	ja	ja	ja
100	1670	1720	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein	nein	nein	nein
101	1350	1400	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	nein	ja
102	1320	1300	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	
103	1710	1650	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
104		1400	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja			nein
105		1350	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein			
106	1380	1340	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja
107	1600	1570	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein			
108	1730	1510	ja	ja	ja	nein	ja	nein	nein	nein	nein	nein
109	1710	1710	ja	ja	ja	ja	nein	nein	ja			nein
110	1500	1470	ja	ja	ja	nein	nein	nein	nein	nein	nein	nein
111	1450	1270	ja	ja	ja	nein	nein	nein	nein			nein
112	1670	1670	ja	ja	ja	nein	nein	ja	nein			
113	1380	1340	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein
114	1320	1240	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein	nein	nein	nein
115		1610	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein			
116	1510	1420	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja
117	1580	1460	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein	ja	nein	nein
118	1380	1320	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	nein
119	1570	1500	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja			
120		1420	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein			
121		1580	ja	ja	ja	nein	nein	ja	nein		ja	
122		1570	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja			
123	1410	1360	ja	ja	ja	nein	nein	nein	nein	nein	nein	nein
124	1320	1300	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
125	1460	1370	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein	nein	nein	ja
126	1530	1510	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein	ja	ja	

Lfd. Nr.	Hirngewicht (g)		Gehirn							Halsmark		
	nativ	fixiert	Abflachung der Gyri	Uncuschnürfurche	Kleinhirndruckkonus	Tonsillennekrose	Mittellinienvorlagerung	Brücke: Blutung, Nekrose	Hämorrhag. Infarkt okzipital	Kleinhirnnnekrose	Halsmark: Blutung, Nekrose	EDB, SDB, SAB
127	1780	1720	ja	ja	ja	nein	nein	nein	ja	nein	nein	nein
128		1540	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	ja	ja
129	1620	1600	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein	ja		
130		1310	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
131	1450	1410	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein	ja	nein	nein
132	1650	1480	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	nein	ja
133	1230	1160	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein	ja	nein	ja
134	1590	1480	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	nein
135	1650	1570	ja	ja	ja	nein	nein	nein	nein	nein	nein	
136	1610	1540	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein
137	1350	1300	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja
138	1500	1450	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein			
139	1420	1440	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein			
140	1510	1570	ja	ja	ja	nein	nein	nein	nein			
141	1640	1560	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein	ja	ja	nein
142	1220	1180	ja	ja	ja	ja	ja	nein		ja	ja	nein
143	1690	1640	ja	ja	ja	ja	nein	nein	ja	ja	ja	nein
144		1550	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein			
145	1830	1740	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein			
146	1350	1300	ja	ja	ja	nein	nein	ja	ja	nein	nein	ja
147	1250	1340	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein			
148	1540	1530	ja	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	ja	nein
149	1290	1300	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein	ja	ja	ja

Tabelle A.3: Tabellarische Darstellung der Fälle des Gesamtkollektivs (Hirntod-Fälle, n=149), Aufzeichnung des Hirngewichts sowie der makroskopischen Befunde von Gehirn und Halsmark. Angaben unvollständig. (EDB= Epidural-, SDB= Subdural-, SAB= Subarachnoidalblutung, g= Gramm)

A.4: Teilkollektiv: Histologie reaktiver Veränderungen

Lfd. Nr.	Halsmark						Hypophyse				Nervus opticus		
	subarachnoidal			parenchymal							subarachnoidal	parenchymal	
	Kleinhirn- Nekrose	Leukozyten	Makrophagen	Blutung, Nekrose	Leukozyten	Makrophagen	Blutung	Nekrose	Leukozyten	Makrophagen	Leukozyten	Leukozyten	Blutung, Nekrose
2	ja	ja		ja	ja	ja	nein	ja	nein	nein	ja	ja	ja
3	ja						nein	ja					
4	ja	ja		ja	nein			ja	ja				
6	ja	ja		ja	ja		ja	ja	ja	nein	ja	nein	nein
7	nein	nein		nein	nein	nein							
8	nein	nein					ja		ja	nein			
10	nein	ja	nein	nein	ja	nein							
12	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja			
13	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja
14	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja
15	nein	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja			
19	ja												
20	ja			ja									
21	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja		ja	nein	nein
26	ja	ja	ja	ja	ja	nein							
29	nein	nein	nein	nein	nein	nein							
43	ja	ja	nein	ja	ja	ja							
46	nein	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja	ja				
48	ja	ja		ja	nein	nein							
49	ja	ja		nein	nein	nein					ja	ja	ja
53	ja	ja		ja	ja	nein	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
54	ja	ja		ja	ja	nein					ja	ja	ja
62	ja	ja		nein	ja	nein	nein	ja	ja	nein	ja	ja	ja
64		ja		nein	nein	nein					ja	nein	nein
65	ja	ja		ja	ja	nein	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
67	ja	ja		ja	ja	nein	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
68		ja		ja	ja	nein	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
75		ja		ja	ja	nein	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
77	ja	ja		ja	ja	nein	ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja
78	ja	ja		nein	ja						ja	ja	ja
81	ja	ja		ja	nein	ja					ja	nein	ja
85	ja	ja		ja	ja	ja	nein	ja	ja	ja			
88	ja	ja		ja	ja	nein					ja	ja	nein
89		ja		nein	ja	nein							
90	ja	ja		ja	ja	ja					ja	ja	ja
91	nein	ja		nein	nein	nein	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein
92	ja	ja	ja	nein	ja	ja							
93	ja	ja	nein	nein	ja	nein							

Lfd. Nr.	Halsmark						Hypophyse				Nervus opticus		
	subarachnoidal			parenchymal							subarach- noidal	parenchymal	
	Kleinhirn- Nekrose	Leukozyten	Makrophagen	Blutung, Nekrose	Leukozyten	Makrophagen	Blutung	Nekrose	Leukozyten	Makrophagen	Leukozyten	Leukozyten	Blutung, Nekrose
95	ja	ja		ja	nein	nein							
99	ja	ja	nein	nein	ja	nein							
102	ja	ja	nein	ja	nein	nein							
103	ja	ja	ja	nein	ja	ja							
106	ja	ja	nein	ja	nein	nein							
108	ja	ja	ja	nein	nein	ja							
113	ja	ja	ja	nein	nein	ja							
117	ja	ja	nein	nein	ja	nein							
118	ja	ja		nein	nein	nein							
123	nein	ja		nein	nein								
124	nein												
125	nein	ja	ja	ja	nein	ja							
132	ja	ja	ja	nein	ja	ja							
133	ja	ja	ja	ja	nein	ja							
137	ja	ja	ja	nein	ja	ja							

Tabelle A.4: Tabellarische Darstellung einer Auswahl von Fällen des Gesamtkollektivs (Hirntod-Fälle, n=53), Aufzeichnung der mikroskopischen Befunde innerhalb der Demarkationszonen (Halsmark, Hypophyse, N. opticus), verwendete Färbemethoden: NAS-DCIAE, CD68.

A.5: Teilkollektiv: Histologie degenerativer Veränderungen

Lfd. Nr.	Alter (Jahre)	Geschlecht	Diagnosegruppe	Ammonshornregion			
				CA4	CA3	CA2	CA1
10	11	w	1	4	4	2	6
15	65	w	3	0	0	0	0
21	38	m	1	8	6	3	2
26	29	m	1	0	0	0	0
46	43	m	1	3	0	4	3
48	37	w	1	1	0	0	0
49	59	m	1	8	9	7	2
53	21	m	2	0	0	0	0
54	41	w	1	0	0	0	0
67	32	m	1	9	7	3	0
68*	55	m	1	69	75	76	37
75	64	m	1	0	0	0	0
77	39	w	1	4	10	7	3
81	49	m	1	16	21	7	4
85	20	m	1	0	0	0	0

Lfd. Nr.	Alter (Jahre)	Geschlecht	Diagnose- gruppe	Ammonshornregion			
				CA4	CA3	CA2	CA1
88*	42	m	1	8	47	52	19
89	36	m	1	0	0	0	0
90	36	m	1	0	0	0	0
91	18	m	1	0	0	0	0
92*	54	m	1	58	53	33	8
93	62	w	1	2	0	0	0
95	60	m	1	6	5	2	0
103	16	m	1	8	12	23	3
106	39	m	1	0	0	8	0
108	21	w	1	2	0	0	0
123	14	m	1	9	11	13	4
132	53	m	1	4	0	6	0

Tabelle A.5: Prozentuale Darstellung MAP2-positiver Nervenzellen des Ammonshorns in einer Auswahl von Fällen des Gesamtkollektivs (Hirntod-Fälle, n=27), *Sonderfälle

A.6: Kontrollkollektiv: Histologie degenerativer Veränderungen

K-Nr.	Fall	Alter (Jahre)	Geschlecht	Diagnose	Ammonshornregion			
					CA4	CA3	CA2	CA1
K 1	S 31/ 02	40	m	Zugunfall	28	36	44	25
K 2	S 4/ 02	43	m	Sturz aus großer Höhe	14	26	0	0
K 3	S 158/ 01	21	m	Zugunfall	30	32	17	8
K 4	S 9/ 01	33	m	Herzdurchschuss	35	54	75	63
K 5	S 158/ 99	61	w	Zugunfall	0	0	4	5
K 6	S 166/ 98	43	m	LKW-Unfall	12	32	84	82
K 7	S 74/ 98	35	m	Sturz aus großer Höhe	19	14	16	11
K 8	S 178/ 97	45	m	Stichverletzung	3	2	4	3
K 9	S 170 /97	46	w	PKW-Unfall	11	18	12	7
K 10	S 165/ 97	54	w	Herzdurchschuss	9	13	11	14
K 11	S 116/ 97	31	m	Sturz aus großer Höhe	69	44	23	16
K 12	S 49/ 97	45	m	Sturz aus großer Höhe	67	64	59	51
K 13	S 75/ 96	18	m	Sturz aus großer Höhe	0	7	3	4
K 14	S 45/ 96	37	m	Sturz aus großer Höhe	21	13	8	6
K 15	S 86/ 95	21	m	Herzdurchschuss	24	39	16	9
K 16	S 15/ 94	54	w	Sturz aus großer Höhe	67	74	82	79
K 17	S 117/ 93	22	w	Sturz aus großer Höhe	17	28	34	25

Tabelle A.6: Tabellarische Darstellung der Fälle eines Kontrollkollektivs (Akutversterben), Aufzeichnung von Alter, Geschlecht und Diagnose sowie prozentuale Darstellung MAP2-positiver Nervenzellen innerhalb der Ammonshornregionen

Anhang B: Deskriptive Statistik

B.1: Anzahl der Fälle (gesamt): Korrelation makroskopischer Befunde und Altersklassen

(EDB= Epiduralblutung, SDB= Subduralblutung, SAB= Subarachnoidalblutung)

Makroskopische Befunde		Anzahl der Fälle (gesamt) innerhalb verschiedener Altersklassen (Jahre)							
		0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	60-70	70-80
Gehirn	Abflachung der Hirnwindungen	12	20	21	25	22	26	12	11
	Kleinhirndruckkonus	12	20	21	25	22	26	12	11
	Uncusschnürfurche	12	20	21	25	22	26	12	11
	Tonsillennekrose	12	20	21	25	22	26	12	11
	Brückenblutung/ -nekrose	11	20	21	24	22	26	12	11
	Mittellinienverlagerung	12	20	21	25	22	26	12	11
	Hämorrhagischer Infarkt okzipital	11	19	20	24	22	24	11	10
Halsmark	Kleinhirnnnekrose	5	12	16	17	9	19	9	3
	Markblutung/ -nekrose	4	12	15	17	9	19	9	3
	EDB, SDB, SAB	4	11	14	15	12	19	9	2

B.2: Anzahl der Fälle (gesamt): Korrelation makroskopischer Befunde und Zeitphasen

(EDB= Epiduralblutung, SDB= Subduralblutung, SAB= Subarachnoidalblutung)

Makroskopische Befunde		Anzahl der Fälle (gesamt) innerhalb verschiedener Zeitphasen, 1=kurz <2<3<4 =lange Zeitdauer (Stunden)											
		Zeitintervall A-B				Zeitintervall B-C				Zeitintervall A-C			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Gehirn	Abflachung der Gyri	24	24	25	23	19	23	23	22	32	36	36	36
	Kleinhirndruckkonus	24	24	25	23	19	23	23	22	32	36	36	36
	Uncusschnürfurche	24	24	25	23	19	23	23	22	32	36	36	36
	Tonsillennekrose	24	24	25	23	19	23	23	22	32	36	36	36
	Brückenblutung/ -nekrose	23	24	24	23	19	23	22	21	31	36	35	36
	Mittellinienverlagerung	24	24	25	23	19	23	23	22	32	36	36	36
	Hämorrhag. Infarkt okzipital	22	23	22	22	19	20	20	21	30	33	33	36
Halsmark	Kleinhirnnnekrose	19	14	15	17	14	17	14	14	21	22	23	18
	Markblutung/ -nekrose	20	14	14	16	13	17	14	14	21	21	24	16
	EDB, SDB, SAB	18	15	15	13	12	16	15	11	19	22	24	14

B.3: Anzahl der Fälle (gesamt): Korrelation mikroskopischer Befunde und Zeitphasen

(SAR= Subarachnoidalraum, Pa= parenchymal)

Mikroskopische Befunde		Anzahl der Fälle (gesamt) innerhalb verschiedener Zeitphasen, 1=kurz <2<3<4 =lange Zeitdauer (Stunden)											
		Zeitintervall A-B				Zeitintervall B-C				Zeitintervall A-C			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Halsmark	SAR: Kleinhirn-Nekrose	10	10	11	11	11	14	8	6	13	11	11	11
	SAR: Leukozyten	9	12	11	12	12	15	10	5	12	13	12	10
	SAR: Makrophagen	6	3	5	6	8	5	5	2	5	7	6	5
	Pa: Blutung, Nekrose	9	12	11	12	12	15	9	5	12	12	12	10
	Pa: Leukozyten	9	11	11	12	12	15	9	5	12	12	12	10
	Pa: Makrophagen	8	10	10	11	11	14	9	5	11	12	11	10
Hypophyse	Blutung	1	7	5	1	0	7	5	1	3	6	3	6
	Nekrose	1	6	6	1	0	7	4	1	3	5	3	6
	Leukozyten	1	7	6	1	0	7	5	1	3	6	3	5
	Makrophagen	1	6	4	1	0	5	5	1	3	4	3	5
N.opticus	SAR: Leukozyten	1	5	6	6	2	8	5	2	4	4	6	5
	Pa: Leukozyten	1	5	6	6	2	8	5	2	4	4	6	5
	Pa: Blutung, Nekrose	1	5	6	6	2	8	5	2	4	4	6	5

B.4: MAP2-Expression des Hirntod-Kollektivs

Ammonshorn-Region	Fallzahl (n)	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Deskriptive Statistiken		
						25.	50. (Median)	75.
CA4	27	8,11	16,554	0	69	0	3	8
CA3	27	9,63	18,762	0	75	0	0	10
CA2	27	9,11	17,883	0	76	0	2	7
CA1	27	3,22	7,807	0	37	0	0	3

B.5: MAP2-Expression des Kontroll-Kollektivs

Ammonshorn-Region	Fallzahl (n)	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Deskriptive Statistiken		
						25.	50. (Median)	75.
CA4	17	25,06	22,626	0	69	10	19	32,5
CA3	17	29,18	21,196	0	74	13	28	41,5
CA2	17	28,94	28,982	0	84	6	16	51,5
CA1	17	24	27,21	0	82	5	11	38

B.6: MAP2-Expression im Zeitintervall A-B (n=23)

Ammonshorn-Region	Zeitphase (1 < 2 < 3 < 4)	Deskriptive Statistiken			
		Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
CA4	1	4,2	4	0	9
	2	2,57	0	0	9
	3	5,25	6	1	8
	4	3,43	2	0	16
CA3	1	5,4	4	0	12
	2	1,71	0	0	7
	3	6,25	7,5	0	10
	4	3	0	0	21
CA2	1	7,6	2	0	23
	2	2,43	2	0	8
	3	4,25	5	0	7
	4	1,86	0	0	7
CA1	1	1,8	2	0	4
	2	0,43	0	0	3
	3	1,75	2	0	3
	4	0,57	0	0	4

Tabelle B.6: Zeitintervall A-B (Zeit von kausalem Ereignis (Diagnosegruppe) bis zur ersten Hirntod-Diagnostik; 1= kurz < 2 < 3 < 4= lange Zeitdauer (Stunden), Anzahl (n) =23 (n1=5, n2=7, n3=4, n4=7)

B.7: MAP-Expression im Zeitintervall B-C (n=23)

Ammonshorn-region	Zeitphase (1 < 2 < 3 < 4)	Deskriptive Statistik			
		Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
CA4	1	3,63	3,00	0	9
	2	5,25	4,50	0	16
	3	3,00	2,00	0	8
	4	,33	,00	0	1
CA3	1	3,00	,00	0	11
	2	4,88	2,50	0	21
	3	5,50	5,00	0	12
	4	,00	,00	0	0
CA2	1	3,50	1,00	0	13
	2	2,38	2,50	0	7
	3	9,50	7,50	0	23
	4	0,00	,00	0	0
CA1	1	1,00	,00	0	4
	2	1,13	,00	0	4
	3	1,50	1,50	0	3
	4	,00	,00	0	0

Tabelle B.7: Zeitintervall B-C (Zeit von erster Hirntod-Diagnose bis zur Beendigung der Beatmung;
1= kurz < 2 < 3 < 4= lange Zeitdauer (Stunden), Anzahl (n) =23 (n1=8, n2=8, n3=4, n4=3)

B.8: MAP-Expression im Zeitintervall A-C (n=24)

Ammonshorn-region	Zeitphase (1 < 2 < 3 < 4)	Deskriptive Statistik			
		Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
CA4	1	3,75	2,00	0	9
	2	3,13	1,50	0	8
	3	5,75	3,00	1	16
	4	1,50	1,00	0	4
CA3	1	4,25	2,00	0	12
	2	2,50	,00	0	9
	3	7,75	5,00	0	21
	4	,00	,00	0	0
CA2	1	5,13	1,00	0	23
	2	3,00	2,50	0	8
	3	3,50	3,50	0	7
	4	1,50	,00	0	6
CA1	1	1,13	,00	0	4
	2	,88	,00	0	3
	3	1,75	1,50	0	4
	4	0,00	0,00	0	0

Tabelle B.8: Zeitintervall B-C (Zeit von kausalem Ereignis bis zur Beendigung der Beatmung;
1= kurz < 2 < 3 < 4= lange Zeitdauer (Stunden), Anzahl (n) =24 (n1=8, n2=8, n3=4, n4=4)

Anhang C

Darstellung der statistischen Signifikanz

Exakte Signifikanz (2-seitig): Diagnosegruppe * Makroskopische Befunde			
		Anzahl der gültigen Fälle	Exakter Test nach Fisher
Gehirn	*Abflachung der Hirnwindungen	149	konstant
	*Kleinhirndruckkonus	149	konstant
	*Uncusschnürfurche	149	1,000
	*Tonsillennekrose	149	0,365
	*Brückenblutung/ -nekrose	147	0,077
	*Mittellinienverlagerung	149	0,000 **
	*Hämorrhagischer Infarkt okzipital	141	0,243
Halsmark	*Kleinhirnnnekrose	90	0,905
	*Markblutung/ -nekrose	88	0,460
	*EDB, SDB, SAB	86	0,657

Tabelle C.1: Darstellung der Exakten Signifikanz (2-seitig) bei Gegenüberstellung der makroskopischen Befunde klassifiziert nach Diagnosegruppen (*), konstant: Der Befund ist in sämtlichen Fällen vorhanden.
 **Signifikanz bei $p \leq 0,05$ (EDB= Epiduralblutung, SDB= Subdualblutung, SAB= Subarachnoidalblutung)

Exakte Signifikanz (2-seitig): Altersklassen * Makroskopische Befunde			
		Anzahl der gültigen Fälle	Exakter Test nach Fisher
Gehirn	*Abflachung der Hirnwindungen	149	konstant
	*Kleinhirndruckkonus	149	konstant
	*Uncusschnürfurche	149	0,369
	*Tonsillennekrose	149	0,611
	*Brückenblutung/ -nekrose	147	0,155
	*Mittellinienverlagerung	149	0,100
	*Hämorrhagischer Infarkt okzipital	141	0,080
Halsmark	*Kleinhirnnnekrose	90	0,288
	*Markblutung/ -nekrose	88	0,800
	*EDB, SDB, SAB	86	0,911

Tabelle C.2: Darstellung der Exakten Signifikanz (2-seitig) bei Gegenüberstellung der makroskopischen Befunde klassifiziert nach Altersklassen (*), konstant: Der Befund ist in sämtlichen Fällen vorhanden.
 **Signifikanz bei $p \leq 0,05$ (EDB= Epiduralblutung, SDB= Subdualblutung, SAB= Subarachnoidalblutung)

Exakte Signifikanz (2-seitig): Geschlecht * Makroskopische Befunde			
		Anzahl der gültigen Fälle	Exakter Test nach Fisher (p)
Gehirn	*Abflachung der Hirnwindungen	149	konstant
	*Kleinhirndruckkonus	149	konstant
	*Uncusschnürfurche	149	1,000
	*Tonsillennekrose	149	0,674
	*Brückenblutung/ -nekrose	147	0,001 **
	*Mittellinienverlagerung	149	0,029 **
	*Hämorrhagischer Infarkt okzipital	141	0,308
Halsmark	*Kleinhirnnnekrose	90	1,000
	*Markblutung/ -nekrose	88	0,484
	*EDB, SDB, SAB	86	0,815

Tabelle C.3: Darstellung der Exakten Signifikanz (2-seitig) bei Gegenüberstellung der makroskopischen Befunde klassifiziert nach dem Geschlecht (*), konstant: Der Befund ist in sämtlichen Fällen vorhanden.
 **Signifikanz bei $p \leq 0,05$ (EDB= Epiduralblutung, SDB= Subdualblutung, SAB= Subarachnoidalblutung)

Exakte Signifikanz (2-seitig): Geschlecht * Mikroskopische Befunde			
		Anzahl der gültigen Fälle	Exakter Test nach Fisher
Halsmark	SAR: Kleinhirn-Nekrose	49	1,000
	SAR: Leukozyten	49	0,248
	SAR: Makrophagen	23	0,621
	Pa: Blutung oder Nekrose	49	0,740
	Pa: Leukozyten	48	0,732
	Pa: Makrophagen	44	0,474
Hypophyse	Blutung	19	0,530
	Nekrose	19	konstant
	Leukozyten	19	1,000
	Makrophagen	16	1,000
N. opticus	SAR: Leukozyten	20	konstant
	Pa: Leukozyten	20	0,509
	Pa: Blutung, Nekrose	20	1,000

Tabelle C.4: Darstellung der Exakten Signifikanz (2-seitig) bei Gegenüberstellung der mikroskopischen Befunde klassifiziert nach dem Geschlecht (*), konstant: Der Befund ist in sämtlichen Fällen vorhanden. **Signifikanz bei $p \leq 0,05$ (SAR= Subarachnoidalraum, Pa= parenchymal)

Wilcoxon-Test						
	CA2 - CA1	CA3 - CA1	CA4 - CA1	CA3 - CA2	CA4 - CA2	CA4 - CA3
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,001 **	,002 **	,004 **	,932	,983	,678

Tabelle C.5: Darstellung Signifikanz (2-seitig) bei Gegenüberstellung der MAP2-Expression verschiedener CA-Regionen innerhalb des Hirntod-Kollektivs, n=27, **Signifikanz ($p \leq 0,008$)

Mann-Whitney-U-Test				
	CA4	CA3	CA2	CA1
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,001**	,000**	,001**	,000**

Tabelle C.6: Darstellung der Signifikanz (2-seitig) bei Vergleich der MAP2-Expression verschiedener CA-Regionen in den Kollektiven Hirntod (n=27) und Akutversterben (Kontrolle, n=17), **Signifikanz ($p \leq 0,012$)

Anhang D

Chemikalien- und Gerätenachweis

D.1: Chemikaliennachweis und Ansätze der Reagenziengemische

AEC (3-Amino-9-Ethylcarbazol) - Substrat-Kit (für CD68 und MAP2)

Reagenz A: Substratpuffer

Reagenz B: AEC-Chromogen-Lösung

Reagenz C: 0,6 % Hydrogenperoxid-Lösung

Nr.: 00-2007; Zymed Laboratories Inc., San Francisco, California, USA

AEC-Farblösung (für CD68 und MAP2)

50 µl Substratpuffer + 50 µl Chromogenlösung + 50 µl Hydrogenperoxidlösung auf 1 ml Aqua dest.

Antibody Diluent 00-3218 (für CD68 und MAP2)

Nr.: 00-3218; Zytomed, San Francisco, Californien

Aqua destillata

Institut für Rechtsmedizin, UKSH, Campus Kiel

Aquatex®

Wässriges Eindeckmittel, pH 7,0; Nr.: 1.08562; Merck KGaA, Darmstadt

Biotinkonjugierter Ziege-anti-Maus IgG-Antikörper (für MAP2)

Vertrieb: Dianova GmbH, Hamburg; Code-Nr.: 115-065-166

Herstellung: JacksonImmunoResearch Laboratories, Inc., West Baltimore, USA

Citratpuffer

Stammlösung A: Citronensäure-Monohydrat : 2,101 g auf 100 ml Aqua dest.

Stammlösung B: Tri-Natriumcitrat-Dihydrat: 5,882 g auf 200 ml Aqua dest.

Gebrauchslösung: 4,5 ml Ansatz A + 20,5 ml Ansatz B auf 250 ml Aqua dest. auffüllen,
pH = 6,0**Citronensäure-Monohydrat** (Bestandteil Citrat-Puffer)

Nr.: 1.00244, Merck KGaA, Darmstadt

Ethanol 100% und absteigende Reihe 96%, 70%

Büfa Chemikalien GmbH & Co KG, Hude

Formalin 4,5%, gepuffert

Büfa Chemikalien GmbH & Co KG, Hude

Hämalaun nach Mayer, sauer

Nr.: T 865.2; Firma Roth, Karlsruhe

Naphtol AS-D-Chlorazetat Esterase

91C-1KT Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim

Natriumchlorid (Bestandteil Tris-Puffer)

Nr.: 1.06404; Merck KGaA, Darmstadt

Paraffin

Erstarrungspunkt 42–44° C, Merck KGaA, Darmstadt

Peroxidase-konjugiertes Streptavidin (für MAP2)

Vertrieb: Dianova GmbH, Hamburg; Code-Nr.: 016-030-084

Herstellung: JacksonImmunoResearch Laboratories, Inc., West Baltimore, USA

Primärantikörper CD 68, clone PG-M1

Nr.: M0876; DAKO Cytomation, Denmark

Primärantikörper MAP2a,b Ab-2 (Klon AP 20)

Vertrieb: Dianova GmbH, Hamburg, Katalog-Nr.: 08582

Herstellung: Neomarkers, Inc./Lab Vision, Fremont, USA

Katalog-Nr.: MS-249-P

Strept AB Complex / HRP Duet (für CD68)

Nr.: K0492; DAKO Cytomation, Denmark

Mouse/Rabbit, 100x konzentriert, affinitätsorientiert

Tri-Natriumcitrat-Dihydrat

Nr.: 38642; Serva Feinbiochemica GmbH & Co.; Heidelberg

Tris-(Hydroxymethyl)-Aminomethan (= Tris-Base, Bestandteil Tris-Puffer)

Pufferan $\geq 99,9\%$

Nr.: T1503; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim

Tris-Hydrochlorid (Tris-HCL, Bestandteil Tris-Puffer)

Pufferan $\geq 99\%$

Nr.: T3253; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim

Tris-Puffer

4,0g Tris-Aminomethan + 34,25g Tris-Hydrochlorid + 47g Natriumchlorid mit Aqua dest. auf 5 Liter auffüllen, pH = 7,4-7,6

Wasserstoffperoxid 3%

Otto Fischar GmbH & Co.KG

Xylol

Nr.: 1307; Th. Geyer GmbH & Co.KG, Hamburg

D.2 Nachweis der Geräte und Arbeitsutensilien

Deckgläser

Menzel-Gläser, Braunschweig

Eppendorf-Pipetten (500-5000, 100-500, 0,5-10µl)

Firma Eppendorf - Netheler-Hinz GmbH Hamburg

Gewebeeinbettautomat

Autotechnicon / Hypercenter XP der Firma Shandon, Frankfurt

Mikroskop Axiolab

Serien-Nr.: 982883; Carl Zeiss Jena GmbH, Jena

Mikrotomklingen

Microtome Blades S35, Feather Safety Razor Co., Ltd., Osaka, Japan

Vertrieb für Europa: Produkte der Medizin AG, Köln

Mikrowelle

2450 Megahertz, maximale Leistung 800 W, Siemens-Elektrogeräte GmbH, München

Oberschalige Präzisionswaage Kilomat

Typ 2116; Sartorius AG, Göttingen

Objektträger, SuperFrostPlus®

Art.-Nr.: 041300, Menzel-Gläser, Braunschweig

Schlittenmikrotom

Jung AG, Heidelberg

Waage analytic

Typ A2005; Sartorius AG, Göttingen

Wärmeschrank

Typ B10, 70° C; Memmert, Schwabach

Wasserbad

Enno Vieth, Wismoor

Zellzählgerät

AssistentCounter AC-8

Glaswarenfabrik Karl Hecht KG „Assistent“, Sondheim

Anhang E: Danksagung

Mein herzlicher Dank gebührt an erster Stelle meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Manfred Oehmichen, für die vertrauensvolle Übertragung dieser interessanten Forschungsarbeit bezüglich der Morphologie des Hirntodes. Die nicht selbstverständliche, weitreichende wissenschaftliche und persönliche Unterstützung meiner Person bei der Auseinandersetzung mit der Thematik war, ebenso wie der mir gewährte Freiraum bei steter Vermittlung einer ermutigenden Sicherheit, für das Gelingen dieser Arbeit von entscheidender Bedeutung.

Herrn Prof. Dr. med. Dr. jur. Hans-Jürgen Kaatsch und allem Mitarbeitern des Instituts für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, möchte ich danken für die Bereitstellung eines bestmöglichen Arbeitsplatzes und unsere stets freundliche Zusammenarbeit.

Besonderer Dank gilt Frau Sabine Preiß, durch deren warmherzige und überaus gründliche Einführung in die Welt der Enzym- und Immunhistochemie es mir erst möglich wurde, die vorliegenden Untersuchungen gewissenhaft durchzuführen.

Herrn Urs Oliver Wiesbrock danke ich für seine unkomplizierte Hilfe bei speziellen Nachforschungen einzelner Sektionsfälle des Instituts für Rechtsmedizin in Lübeck und die freundliche Übermittlung der Auswertungen in telefonischen Konferenzen.

Mein Dank gebührt außerdem den Mitarbeitern des Instituts für Medizinische Informatik und Statistik, im Besonderen Herrn Jürgen Hedderich und Herrn Oliver Vollrath für eine individuelle Einführung in das Statistikprogramm SPSS sowie für die weitere sehr wertvolle Beratung und Aufsicht der statistischen Berechnungen vorliegender Arbeit.

Herrn Prof. Dr. med. Günter Klöppel möchte ich für die vorbehaltlose Genehmigung des uneingeschränkten Zugriffs auf die digital-mikroskopische Fotokamera des Instituts für Allgemeine Pathologie aufrichtig meinen Dank aussprechen.

Für seine Hilfsbereitschaft bei der Literaturrecherche bezüglich des physiologischen Hirngewichts des Menschen danke ich Herrn Dr. med. Heinz Hermann Hugo.

Meiner Familie und meinen Freunden gilt mein Dank für ihre stets interessierte Anteilnahme an der vorliegenden Forschungsarbeit und für die unzähligen Diskussionen, in denen sowohl medizinische, als auch ethische und theologische Aspekte des Hirntod-Kriteriums debattiert wurden. Die angeregten und anregenden Konversationen demonstrierten sehr eindringlich die aktuelle Brisanz dieser Thematik und bildeten eine erfrischende Grundlage meiner Arbeit.

Meinen Schwestern Isabel und Viola Maith danke ich außerdem für ihre andauernde und entschlossene Hilfsbereitschaft bei der Literaturbeschaffung aus dem Fundus der jeweiligen Universitätsbibliotheken Köln und Göttingen.

Unendlicher Dank gebührt meinen Eltern für das mir geschenkte Zutrauen ins Leben und ihre aufrichtige Liebe. Ich danke meiner Mutter Beatrix Maith besonders für ihre sorgfältigen Korrekturen und die vielen ermutigenden Worte zu jeder Zeit. Meinem verstorbenen Vater Dr. med. Jürgen Maith verdanke ich nicht nur meine finanzielle Unabhängigkeit.

Götz Hagemann möchte ich danken für seine aufrichtige Anteilnahme an meinem Leben und unsere bedingungslose Liebe.

Anhang F: Lebenslauf

Julia Maria Maith

Persönliche Daten

Geburtsdatum und -ort: 13. Oktober 1982 in Braunschweig
 Anschrift: Feldstraße 102, 24105 Kiel
 Telefon: 0431-3854070
 E-Mail: j.maith@gmx.de
 Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung

1989 - 06/2002 Grundschole, Gymnasium einer Gesamtschole und Oberstufe in Hofgeismar, Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife

Berufsausbildung

2002 - 2005 Studium der Humanmedizin an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Vorklinische Ausbildung

03/2005 Erwerb der Ärztlichen Vorprüfung

seit 2005 Studium der Humanmedizin an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Klinische Ausbildung

02/2008 - 01/2009 Praktisches Jahr

Promotion

Experimentelle Arbeit zum Thema „Der Hirntod des Menschen: Forensische Neuropathologie“ unter Leitung von Prof. Dr. med. M. Oehmichen, ehem. Direktor des Instituts für Rechtsmedizin des Univeritätsklinikums Schleswig-Holstein (UKSH), Campus Kiel

